



**Ângela Pereira Costa**

Licenciada em Ciências de Engenharia Física

## **Desenvolvimento de um sensor de *triclosan* em meio complexo**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia Física

Coorientadora: Maria de Fátima Guerreiro da Silva Campos Raposo, Professora Associada com Agregação, Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa

Coorientadora: Susana Isabel dos Santos Silva Sérgio Venceslau, Professora Auxiliar, Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro, 2019



**Ângela Pereira Costa**

Licenciada em Ciências de Engenharia Física

## **Desenvolvimento de um sensor de *triclosan* em meio complexo**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia Física

Coorientadora: Maria de Fátima Guerreiro da Silva Campos Raposo, Professora Associada com Agregação, Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa

Coorientadora: Susana Isabel dos Santos Silva Sérgio Venceslau, Professora Auxiliar, Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa

**Setembro, 2019**



## **Desenvolvimento de um sensor de *triclosan* em meio complexo**

Copyright © 2019 – Ângela Pereira Costa, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



*"If one wishes to obtain something, something of equal value must be given." – The Fullmetal Alchemist*





## **Agradecimentos**

À minha coorientadora, a Professora Doutora Maria de Fátima Raposo, pela orientação e transmissão de conhecimentos, pelo constante apoio e incentivo, pelas imensuráveis paciência e compreensão, por me ter ajudado com todas as minhas dúvidas e que tornou possível eu concluir este trabalho.

À minha coorientadora, a Professora Susana Isabel dos Santos Silva Sérgio Venceslau, pela orientação e transmissão de conhecimentos, pela disponibilidade e boa disposição.

Ao Professor Doutor Paulo Ribeiro, pela boa disposição, apoio na resolução de problemas e assistência em laboratório.

À minha colega Telma Marques pelo companheirismo, boa disposição, disponibilidade e ajuda quer em laboratório quer a nível teórico.

À Fundação para a Ciência e a Tecnologia – FCT pelo projeto financiado PTDC/FIS-NAN/0909/2014.

Ao meu grupo de amigos, ao Nikola, Tariq e Rafa, por tornarem os meus dias mais agradáveis e divertidos.

À minha família, às minhas duas mães, Inês Pereira e Fátima Rocha, à Raquel Rocha e ao meu namorado e companheiro, Filipe Rocha, por todo o apoio, carinho e incentivo, que me permitiram ultrapassar e concluir esta fase da minha vida.



## Resumo

O triclosan é um agente bactericida usado em produtos farmacêuticos e de higiene pessoal, e, portanto, é consumido diariamente em larga escala e despejado em grandes quantidades nos corpos de água. As suas características de estabilidade e de lipofilicidade permitem que permaneça no meio ambiente sem se degradar, tornando-se tóxico não só para os organismos aquáticos, mas para todo o ecossistema. O seu efeito nefasto para a vida requer que se meça regularmente as concentrações desta substância em meios aquáticos, surgindo assim a necessidade de se desenvolverem sensores para tal. Deste modo, propôs-se desenvolver sensores capazes de detetar a presença de pequenas quantidades de triclosan em meio aquoso complexo, nomeadamente, concentrações desde  $10^{-13}M$  a  $10^{-9}M$ . Recorrendo ao conceito de Língua Eletrónica que consiste no desenvolvimento de um conjunto de sensores cujas propriedades elétricas são medidas e analisadas matematicamente. No presente trabalho, usaram-se os polieletrólitos poli(cloreto de alilamina) (PAH), ácido desoxirribonucleico (DNA), DNA com nanopartículas de ouro (GNPs), poli(etilenoimina) (PEI) e óxido de grafeno (GO) para se preparar o conjunto de sensores. Estes consistiram dos filmes (PAH/GO)<sub>10</sub>, (PAH/DNA)<sub>10</sub>, (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub>, (PEI/DNA)<sub>10</sub> e (PEI/GO)<sub>10</sub>, obtidos pela técnica de camada-por-camada (LBL) e que se depositaram sobre elétrodos interdigitados de ouro. Os sensores produzidos foram então testados em soluções com diferentes concentrações de triclosan, e os dados recolhidos através da técnica de espectroscopia de impedância. A variável de fator de dissipação foi ainda analisada estatisticamente através da técnica de Análise de Componentes Principais (PCA). Esta análise permitiu verificar que os filmes finos analisados conseguem discriminar as diferentes concentrações de triclosan em meios aquosos simples e complexos.

**Palavras-chave:** Triclosan; Língua Eletrónica; Eléctrodo Interdigitado; Espectroscopia de impedância; Filmes finos; Camada-por-camada



## Abstract

Triclosan is a bactericidal agent used in pharmaceutical and personal hygiene products, therefore consumed daily on a large scale and dumped in large quantities into bodies of water. Its stability and lipophilicity characteristics allow it to remain in the environment without degrading, making it toxic not only to aquatic organisms, but to the entire ecosystem. Its life-threatening effect requires the concentrations of this substance in aquatic environment to be regularly measured, and thus the need to develop sensors for this purpose. So, it has been proposed the development of sensors capable of detecting the presence of small amounts of triclosan in complex aqueous medium, namely concentrations from  $10^{-13}$  M to  $10^{-9}$  M. Using the concept of electronic tongue, which consists in the development of a set of sensors whose electrical properties are measured and analyzed mathematically. In the present work, poly(allylamine chloride) (PAH), deoxyribonucleic acid (DNA), DNA with gold nanoparticles (GNPs), poly(ethyleneimine) (PEI) and graphene oxide (GO) were used to prepare the sensors assembly. These consisted of the films (PAH/GO)<sub>10</sub>, (PAH/DNA)<sub>10</sub>, (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub>, (PEI/DNA)<sub>10</sub> and (PEI/GO)<sub>10</sub> obtained by layer-by-layer technique (LBL), which were deposited on gold interdigitated electrodes. The produced sensors were then tested in solutions with different concentrations of triclosan, and the data collected using the impedance spectroscopy technique. The dissipation factor variable was also statistically analyzed using the Principal Component Analysis (PCA) technique. This analysis showed that the thin films analyzed can discriminate the different concentrations of triclosan in simple and complex aqueous medium.

**Keywords:** Triclosan; Electronic Tongue; Interdigitated Electrode; Impedance Spectroscopy; Thin films; Layer-by- layer



## Índice

Capítulo 1 - Introdução .....	1
1.1 Enquadramento .....	1
1.2 Estrutura .....	4
Capítulo 2 - Conceitos teóricos .....	5
2.1 Conceito de Sensor .....	5
2.2 Língua Eletrónica .....	5
2.3 Conceito de Espetroscopia de Impedância.....	7
2.3.1 Impedância de um Circuito em série.....	7
2.3.2 Impedância de um Circuito RC paralelo .....	10
2.3.3 Espetroscopia de Impedância .....	13
2.4 Filmes finos e técnica de camada-por-camada .....	13
2.4.1 Polieletrólitos .....	13
2.4.2 Técnica de camada-por-camada.....	14
2.5 Análise de Componentes Principais .....	15
Capítulo 3 - Procedimentos Experimentais .....	17
3.1 Seleção de sensor e polímeros.....	17
3.1.1 Sensores interdigitados .....	17
3.1.2 Materiais para a produção de filmes finos .....	19
3.2 Preparação de filmes finos pela técnica de camada-por-camada .....	21
3.2.1 Preparação inicial .....	21
3.2.2 Preparação das soluções dos polímeros escolhidos .....	21
3.2.3 Aplicação da técnica de camada-por-camada .....	22
3.3 Preparação de soluções de triclosan para análise .....	24
3.3.1 Preparação das “solução-mãe” de triclosan .....	24
3.3.2 Preparação de soluções de TCS através de diluição .....	25
3.4 Caracterização elétrica por espectroscopia de impedância .....	26
Capítulo 4 – Resultados .....	29
4.1 Análise de soluções simples com elétrodos interdigitados sem revestimentos sensoriais .....	29
4.1.1 Reprodutibilidade do sensor em água ultrapura .....	30
4.1.2 Análise de soluções aquosas de triclosan em água ultrapura .....	31
4.1.3 Análise de sensor em água da torneira .....	34
4.1.4 Análise de soluções aquosas de triclosan em água da torneira.....	35
4.2 Análise de soluções simples com elétrodos interdigitados com revestimentos sensoriais em meio aquoso simples.....	38
4.2.1 Análise de sensor revestido com (PAH/GO) <sub>10</sub> em soluções aquosas de triclosan....	39
4.2.2 Análise de sensor revestido com (PAH/DNA) <sub>10</sub> em soluções aquosas de triclosan..	42
4.2.3 Análise de sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs) <sub>10</sub> em soluções aquosas de triclosan .....	45
4.2.4 Análise de sensor revestido com (PEI/DNA) <sub>10</sub> em soluções aquosas de triclosan ...	49

4.2.5	Análise de sensor revestido com (PEI/GO) <sub>10</sub> em soluções aquosas de triclosan .....	52
4.3	Análise de soluções simples com eletrodos interdigitados com revestimentos sensoriais em meio aquoso complexo .....	55
4.3.1	Análise de sensor revestido com (PAH/GO) <sub>10</sub> em soluções aquosas complexas de triclosan .....	56
4.3.2	Análise de sensor revestido com (PAH/DNA) <sub>10</sub> em soluções aquosas complexas de triclosan .....	59
4.3.3	Análise de sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs) <sub>10</sub> em soluções aquosas complexas de triclosan .....	63
4.3.4	Análise de sensor revestido com (PEI/DNA) <sub>10</sub> em soluções aquosas complexas de triclosan .....	66
4.3.5	Análise de sensor revestido com (PEI/GO) <sub>10</sub> em soluções aquosas complexas de triclosan .....	70
4.4	Aplicação de PCA para diferenciação de concentrações de triclosan em meios aquosos .....	73
4.4.1	Água ultrapura e água da torneira .....	73
4.4.2	Água ultrapura .....	78
4.4.3	Água da torneira .....	79
Capítulo 5 - Conclusão e Perspetivas Futuras .....		83
5.1	Conclusão .....	83
5.2	Perspetivas futuras .....	85
Referências .....		87



## Índice de Figuras

Figura 1.1 - Estrutura molecular simétrica do triclosan.....	1
Figura 2.1 - Representação vetorial do desfasamento entre as tensões em R,L e C do circuito e a corrente I (à esquerda) e da diferença de potencial total resultante da soma das tensões aplicadas ao circuito (à direita) [23]......	8
Figura 2.2 - Relação entre impedância (Z), reactância (X), resistência (R) e o desfasamento entre a diferença de potencial total e a corrente máxima (Ø) aplicadas [23]. ....	10
Figura 2.3 – Circuito em AC composto por uma resistência e um condensador em paralelo [23]. ....	10
Figura 3.1 - a) Fotografia do sensor interdigitado [47], b) esquema que mostra a separação de 10µm entre os “dedos” de cada banda do eléctrodo interdigitado [23], c) Representação das dimensões do sensor adquirido à empresa Dropsens [23].....	17
Figura 3.2 - Diagrama esquemático das várias camadas que compõem o sensor utilizado, depois de produzido .....	18
Figura 3.3 - a) Estrutura molecular do PAH [48], b) estrutura molecular do DNA [52], c) estrutura molecular do PEI [56], d) estrutura molecular do GO [61] .....	20
Figura 3.4 - Procedimento experimental usado para compor os filmes finos [62]: 1) o substrato sem revestimento é mergulhado numa solução catiónica durante 60 segundos, dando origem à primeira camada; 2) o sensor é lavado em água ultrapura para retirar o excesso de partículas fisicamente adsorvidas; 3) o substrato é mergulhado numa solução aniónica para criar a segunda camada do filme; 4) o sensor é lavado em água ultrapura para retirar o excesso de partículas fisicamente adsorvidas, e repetido o procedimento mais nove vezes, de modo a obter as dez bicamadas desejadas. Entre cada repetição, o sensor passa por uma ligeira secagem com azoto para “estabilizar” a bicamada criada. ....	23
Figura 3.5 - Sensores preparados com diferentes revestimentos de filmes finos .....	23
Figura 3.6 - Soluções-mãe de TCS preparadas em metanol, com concentrações de 10 <sup>-3</sup> M a 10 <sup>-12</sup> M .....	25
Figura 3.7 - Soluções de teste de TCS preparadas em água ultrapura, com concentrações de 10 <sup>-4</sup> M a 10 <sup>-13</sup> M. ....	25
Figura 3.8 Montagem experimental do circuito usado: a) fotografia da montagem no laboratório, e b) esquema da montagem experimental.....	26
Figura 4.1 - Espetros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação, em função da frequência, obtidos para o sensor de eléctrodos interdigitados sem revestimento, imerso em diferentes amostras de água ultrapura. Os resultados obtidos para as três medições encontram-se sobrepostos. ....	30
Figura 4.2 - Espetros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor de eléctrodos interdigitados sem revestimento, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre 10 e 102 Hz. ....	32
Figura 4.3 - a) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências, em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor de eléctrodos interdigitados sem revestimento, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. ....	33
Figura 4.4 - Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor de eléctrodos interdigitados sem revestimento, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. Sabendo que cada sensor foi analisado duas vezes nas mesmas condições, M1 e M2 representam as medições correspondentes aos pontos máximos de fator de dissipação, m1 e m2 representam as medições correspondentes aos pontos mínimos.....	33
Figura 4.5 - Espetros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação, obtidos para o sensor de eléctrodos interdigitados sem revestimento imerso em amostras de água da torneira. Os resultados obtidos para as três medições encontram-se sobrepostos. ....	34
Figura 4.6 Espetros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação, em função da frequência, obtidos para o sensor de eléctrodos interdigitados sem	

revestimento, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre <b>102 e 104 Hz</b> .....	36
Figura 4.7 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências, em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor de elétrodos interdigitados sem revestimento, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. ....	37
Figura 4.8 Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor de elétrodos interdigitados sem revestimento, imerso em diversas amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos. ....	38
Figura 4.9 Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PAH/GO) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre <b>103 e 104 Hz</b> , no caso dos espectros de impedância, entre <b>105 e 106 e 100 e 101 Hz</b> no caso dos espectros de ângulo de fase e fator de dissipação, e entre <b>10 – 1 e 100 e 102 e 103 Hz</b> no caso dos espectros de capacitância.....	40
Figura 4.10 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PAH/GO) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS.....	41
Figura 4.11 Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PAH/GO) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos. ....	42
Figura 4.12 Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre <b>103 e 105 Hz</b> , no caso dos espectros de impedância e capacitância, entre <b>102 e 103</b> no caso dos espectros de ângulo de fase, e entre <b>105 e 106</b> no caso dos espectros de fator de dissipação..	43
Figura 4.13 a) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências, em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS.....	44
Figura 4.14 Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PAH/DNA) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos. ....	45
Figura 4.15 Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre <b>102 e 104 Hz</b> .....	46
Figura 4.16 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. ....	47
Figura 4.17 Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos. ....	48
Figura 4.18 Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PEI/DNA) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre <b>104 e 106 Hz</b> ...	50

Figura 4.19 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PEI/DNA) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. ....	51
Figura 4.20 Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor de revestido com (PEI/DNA) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos. ....	51
Figura 4.21 Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PEI/GO) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre <b>102 e 104 Hz</b> . ...	53
Figura 4.22 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PEI/GO) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. ....	54
Figura 4.23 Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PEI/GO) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos. ....	55
Figura 4.24 Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PAH/GO) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre <b>102 e 104 Hz</b> , no caso dos espectros de impedância e de capacitância, entre <b>1 e 102</b> no caso dos espectros de ângulo de fase e de fator de dissipação. ....	57
Figura 4.25 - a) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PAH/GO) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. ....	58
Figura 4.26 - Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PAH/GO) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos. ....	59
Figura 4.27 Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre <b>104 e 105 Hz</b> , no caso dos espectros de impedância, entre <b>1 e 104</b> no caso dos espectros de ângulo de fase e de fator de dissipação, e entre <b>10 e 102</b> no caso dos espectros de capacitância. ....	60
Figura 4.28 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. ....	61
Figura 4.29 Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PAH/DNA) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos. ....	62
Figura 4.30 Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre <b>103 e 105 Hz</b> , no caso dos espectros de impedância e capacitância, entre <b>10 e 103</b> no caso dos espectros de ângulo de fase e fator de dissipação. ....	64
Figura 4.31 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. ....	65
Figura 4.32 Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs) <sub>10</sub> ,	

imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos. ....	66
Figura 4.33 Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PEI/DNA) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre 103 e 104 Hz, no caso dos espectros de impedância e capacitância, entre 10 e 103 no caso dos espectros de ângulo de fase e de fator de dissipação. ....	67
Figura 4.34 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PEI/DNA) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS.....	68
Figura 4.35 Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PEI/DNA) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos. ....	69
Figura 4.36 Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PEI/GO) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre 103 e 105 Hz...	71
Figura 4.37 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PEI/GO) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS.....	72
Figura 4.38 Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PEI/GO) <sub>10</sub> , imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos. ....	73
Figura 4.39 - Representação das componentes principais PC1 e PC2 obtidas pelo método de PCA a partir dos espectros de fator de dissipação em função da frequência dos sensores revestidos por filmes finos LBL em água ultrapura e em água da torneira para as concentrações de 10 <sup>-13</sup> M a 10 <sup>-4</sup> M, que em conjunto explicam 74,30% da variância total dos dados.....	74
Figura 4.40 – Representação das componentes principais PC1 e PC2 em água ultrapura para as concentrações de 10 <sup>-13</sup> M a 10 <sup>-4</sup> M.....	75
Figura 4.41 - Representação das componentes principais PC1 e PC2 em água da torneira para as concentrações de 10 <sup>-13</sup> M a 10 <sup>-4</sup> M.....	75
Figura 4.42 - Representação das componentes principais PC1 e PC2 em água ultrapura e água da torneira para as concentrações de 10 <sup>-13</sup> M a 10 <sup>-4</sup> M, para o intervalo de frequências entre 10 Hz e 10 <sup>5</sup> Hz, que em conjunto explicam 91,89% da variância total dos dados .....	76
Figura 4.43 - Representação das componentes principais PC1 e PC2 em água ultrapura para as concentrações de 10 <sup>-13</sup> M a 10 <sup>-4</sup> M, para o intervalo de frequências entre 10 <sup>1</sup> Hz e 10 <sup>5</sup> Hz. 77	
Figura 4.44 - Representação das componentes principais PC1 e PC2 em água da torneira para as concentrações de 10 <sup>-13</sup> M a 10 <sup>-4</sup> M, para o intervalo de frequências entre 10 <sup>1</sup> Hz e 10 <sup>5</sup> Hz. 77	
Figura 4.45 - Representação das componentes principais PC1 e PC2 em água ultrapura para as concentrações de 10 <sup>-13</sup> M a 10 <sup>-4</sup> M, que em conjunto explicam 99,96% da variância total dos dados .....	78
Figura 4.46 – Representação das componentes principais PC1 e PC2 em água ultrapura para as concentrações de 10 <sup>-13</sup> M a 10 <sup>-4</sup> M.....	79
Figura 4.47 - Representação das componentes principais PC1 e PC2 em água da torneira para as concentrações de 10 <sup>-13</sup> M a 10 <sup>-4</sup> M, para o intervalo de frequências entre 10 <sup>1</sup> Hz e 10 <sup>5</sup> Hz, que em conjunto explicam 87,66% da variância total dos dados .....	80
Figura 4.48 - Representação das componentes PC1 e PC2 em água da torneira para as concentrações de 10 <sup>-13</sup> M a 10 <sup>-4</sup> M, para o intervalo de frequências entre 10 <sup>1</sup> Hz e 10 <sup>5</sup> Hz.....	81

## Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

AC	Corrente Alternada ( <i>Alternating Current</i> )
AC-C	Condutividade AC ( <i>AC Conductivity</i> )
C	Capacitância ( <i>Capacitance</i> )
CHI	Quitosana ( <i>Chitosan</i> )
DC	Corrente Contínua ( <i>Direct Current</i> )
DNA	Ácido Desoxirribonucleico ( <i>Desoxyribonucleic Acid</i> )
ECHA	Agência Europeia dos Produtos Químicos ( <i>European Chemicals Agency</i> )
F	Frequência ( <i>Frequency</i> )
FDA	Administração de Alimentos e Medicamentos ( <i>Food and Drug Administration</i> )
GNPs	Nanopartículas de Ouro ( <i>Gold Nanoparticles</i> )
GO	Óxido de Grafeno ( <i>Graphene Oxide</i> )
GC-MS	Cromatografia Gasosa e Espetrometria de Massa ( <i>Gas Chromatography–Mass Spectrometry</i> )
HOTTE	Camara de Extração de Gases
LBL	Camada-por-camada ( <i>Layer-By-Layer</i> )
LC-MS	Cromatografia Líquida e Espetrometria de Massa ( <i>Liquid Chromatography–Mass Spectrometry</i> )
MIPs	Polímero com Impressão Molecular ( <i>Molecularly imprinted polymer</i> )
MWCNT	Nanotubos de carbono de paredes múltiplas ( <i>Multi-Walled Carbon Nanotubes</i> )
PAA	Poli(ácido acrílico) [ <i>poly(acrylic acid)</i> ]
PAH	Poli(cloreto de alilamina) [ <i>poly(allylamine hydrochloride)</i> ]
PAZO	Poli[1-[4-(3-carboxi-4-hidroxifenilazo)-benzenesulfonamida]-1,2-etanodii] sal de sódio [ <i>poly[1-[4-(3-carboxy-4-hydroxyphenylazo)-benzene sulfonamido]-1,2-ethanediyl, sodium salt]</i> ]
(PAH/DNA) <sub>10</sub>	Filmes finos com dez bicamadas de PAH e DNA
(PAH/DNA+GNPs) <sub>10</sub>	Filmes finos com dez bicamadas de PAH e DNA+GNPs

(PAH/GO) <sub>10</sub>	Filmes finos com dez bicamadas de PAH e GO
PCA	Análise de Componentes Principais ( <i>Principal Component Analysis</i> )
PDAC	Poli(cloreto de dimetildialilamónia) [ <i>poly(diallyldimethylammonium chloride)</i> ]
PEI	Poli(etilenoimina) [ <i>poly(ethylenimine)</i> ]
(PEI/DNA) <sub>10</sub>	Filmes finos com dez bicamadas de PEI e DNA
(PEI/GO) <sub>10</sub>	Filmes finos com dez bicamadas de PEI e GO
PPCPs	Produtos Farmacêuticos e de Cuidado Pessoal ( <i>Pharmaceuticals and Personal Care Products</i> )
PSS	Poli(estireno sulfonado) [ <i>poly(styrenesulfonate)</i> ]
PVS	Poli(ácido vinilsulfónico) [ <i>poly(vinyl siloxane acid)</i> ]
TCS	<i>Triclosan</i>

# Capítulo 1 - Introdução

# 1

## 1.1 Enquadramento

Os Produtos Farmacêuticos e de Cuidados Pessoais (PPCPs) estão presentes no nosso dia-a-dia, na forma de champôs, sabonetes, sabonetes líquidos, cremes faciais, protetores solares, perfumes, pastas dentífricas, desodorizantes, entre outros produtos. [1] No entanto, a sua definição é mais vasta, uma vez que a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (U.S. EPA) define como PPCP “qualquer produto usado por indivíduos para fins de saúde pessoal ou cosméticos ou usado na pecuária para aumentar o crescimento ou melhorar a saúde do gado” [2].

Embora os PPCPs sejam muito úteis em melhorar a nossa qualidade de vida, trazem também riscos ao meio ambiente e à saúde pública em geral. Após o seu uso nas diferentes atividades, os PPCPs são despejados conjuntamente com a água residual e reencaminhados para as estações de tratamento de águas residuais que procuram filtrar a água, separando-a de compostos indesejáveis, antes de a reinserirem no meio ambiente. No entanto, alguns dos compostos derivados de PPCPs não são devidamente extraídos e acabam por ser despejados em corpos de água, como rios e oceanos, transformando-se em poluentes nocivos. Não é de estranhar que se tenha investido bastante nas últimas décadas na verificação e regularização, e até exclusão, de substâncias presentes nos PPCPs que possam ser prejudiciais ao ser humano e ao meio ambiente [3].

Uma destas substâncias é o triclosan. O triclosan (TCS), *5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi)-fenol*, de nome comercial *Irgasan DP-300*, é uma substância comumente usada numa grande variedade de PPCPs como agente antibacteriano, antimicrobiano e conservante. É um composto estável não-iónico fenólico e clorado com a aparência de um pó branco, pouco solúvel em água e, portanto, hidrofóbico - embora se torne mais solúvel em soluções aquosas alcalinas. É solúvel em etanol, metanol e em óleos e tem afinidade com gorduras (lipofílico) [4][1][3]. A estrutura química do TCS encontra-se representada na Figura 1.1.

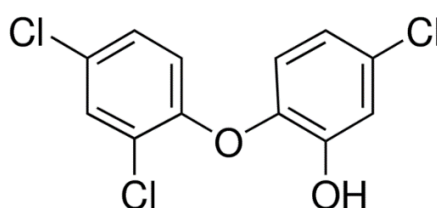


Figura 1.1 - Estrutura molecular simétrica do triclosan

O TCS foi introduzido ao consumidor na década de 70 na área da saúde e foi, desde então, amplamente utilizado nas áreas da farmácia, da higiene e dos cosméticos. O seu uso foca-se principalmente em produtos de cuidados pessoais, devido ao seu perfil de segurança favorável, uma vez que nas dosagens recomendadas apresenta mais benefícios do que riscos para a saúde. A utilização do TCS estende-se desde cremes, sabonetes, pastas dentífricas, perfumes, desodorizantes a detergentes, utensílios médicos e plásticos. É também um dos agentes mais presentes em produtos têxteis.

No entanto, a sua utilização recorrente tem levado ao despejo de grandes quantidades de TCS no meio ambiente nos últimos 40 anos, o qual permanece não só durante muito tempo no meio

ambiente sem se degradar, como se tem vindo a provar que provoca graves problemas nos seres vivos. A sua presença é tóxica não só para os organismos aquáticos, mas para todo o ecossistema e para a saúde pública. A estabilidade e lipofilicidade do TCS faz com que este prevaleça em corpos de água, influenciando negativamente a fauna e a flora presentes [5].

Os efeitos negativos do TCS verificados até então, vão desde a contribuição na morte de grandes quantidades de bactérias aquáticas e aumento da resistência a antibióticos de outras; redução da diversidade de algas em corpos de água [6][7][8]; interferência no sistema endócrino e deterioração do sistema imunitário; diminuição do peso e alteração das hormonas da tiroide, interferindo na produção de anticorpos, provocando o aumento da tendência para desenvolvimento de alergias, “febre dos fenos” e asma [9][10]; efeitos adversos na inflamação do cólon e na formação de tumores do cólon em roedores [11]; e ainda outros problemas de reprodução e desenvolvimento em animais. A sua presença foi detetada em amostras humanas de leite materno, urina e unhas, em amostras de bÍlis de peixes expostos a águas residuais municipais despejadas em corpos de água depois de tratadas [12][13] e em amostras de plasma de golfinhos-roaz [14], sabendo-se que este pode ter sido absorvido quer através da pele quer através do trato intestinal.

Por outro lado, quando exposto a compostos químicos, nomeadamente filtros presentes nas estações de tratamento de águas residuais e à luz solar intensa, o TCS pode sofrer degradação, dando origem a derivados que tal como o TCS são nocivos e podem permanecer durante muito tempo no meio ambiente. Por exemplo, quando em contacto com hipoclorito de sódio, uma lixívia doméstica, o TCS é imediatamente clorado resultando em várias outras substâncias: éter 20,3,4,40-tetracloro-2-hidroxidifenílico, éter 2,4,40,5-tetracloro-2-hidroxil-difenílico, éter 2,3,4,40,5-pentacloro-2-hidroxil-difenílico. Estes compostos apresentam uma estrutura semelhante à dos bifenilos policlorados (PCB), que afetam o sistema hepático e que, quando em contacto com cloro ou cloramina, podem reagir dando origem a vários derivados do cloro [15]. Nas estações de tratamento de águas residuais, o TCS pode também transformar-se em outras substâncias, como o metil-triclosan, que dada a sua estabilidade, lipofilicidade e resistência aos processos de biodegradação e de fotólise, poderão tal como o seu soluto permanecer durante muito tempo no meio ambiente, intensificando os seus efeitos adversos nos organismos vivos. Quando exposto a luz intensa, como a luz solar, o TCS pode sofrer fotodegradação dando origem a dioxinas e clorofenóis [16].

Face a estes resultados, destaca-se a necessidade de reavaliar os efeitos nocivos do TCS na saúde pública e no meio ambiente e atualizar as políticas que regulam o seu uso. Recentemente, foi banida a utilização desta e outras substâncias como componente antisséptico e antibacteriano em sabonetes, sabonetes líquidos e produtos alimentícios pela Administração de Alimentos e Medicamentos (FDA) nos Estados Unidos da América e a Agência Europeia dos Produtos Químicos (ECHA) restringiu a sua utilização em produtos cosméticos na Europa [17][18][19]. No entanto, a presença de grandes quantidades de TCS no meio ambiente e o seu uso em outros PPCPs, torna-se crucial desenvolver métodos sensíveis para deteção e determinação da concentração de TCS em águas residuais.

Alguns dos métodos analíticos desenvolvidos para deteção de TCS incluem cromatografia gasosa e espetrometria de massa (GC–MS), cromatografia líquida e espetrometria de massa (LC-MS), cromatografia líquida e espetrometria de massa por ionização via eletrovaporização e voltametria. No entanto, estes métodos além de complexos, requerem instrumentação cara e consomem uma grande quantidade de materiais [20].

Outros métodos para deteção de TCS incluem métodos baseados nos processos de oxidação e redução no TCS via voltametria de pulso diferencial [20]. Incluem também o método de junção da cromatografia líquida com a deteção eletroquímica em elétrodos de fibra de carbono para determinação do TCS em fluídos fisiológicos, assim como o método de sensor químico de ressonância plasmónica de superfície molecular para deteção de TCS em águas residuais, que se mostraram ambos seletivos e sensíveis, mas apenas para concentrações da ordem dos  $10^{-9} g/mL$  [20][21]. Similarmente, o método de bioluminescência baseado na inibição de



emissão de luz de uma bactéria luminescente não é apropriado para monitorização, uma vez que o seu limite de deteção é da ordem dos  $10^{-6} g/mL$  e é pouco sensível [22].

A utilização de sensores baseados no conceito de Língua Eletrónica, usando a Espectroscopia de Impedância como técnica de medida, tem-se mostrado muito eficiente na deteção e determinação de iões de metal, compostos tóxicos, biomoléculas e medicamentos, e consequentemente constitui o rumo certo a seguir para o desenvolvimento de uma solução analiticamente seletiva, sensível, simples e rápida para a deteção e determinação de TCS em meio aquoso [21]. No grupo de Sistemas Moleculares Funcionais do CEFITEC, na FCT/UNL, foram desenvolvidos dois trabalhos que consistiram na produção de sensores para a determinação de TCS em meio aquoso simples [23] [24] e em leite materno [25], com a apresentação de bons resultados.

No primeiro trabalho foi desenvolvido um sistema sensorial para deteção de TCS em água a baixas concentrações, recorrendo ao conceito de Língua Eletrónica e à técnica de Espectroscopia de impedância. Após seleção de moléculas que se adequassem à deteção de TCS, nomeadamente poli(cloreto de alilamina) (PAH), poli[1-[4-(3-carboxi-4-hidroxifenilazo)-benzenesulfonamida]-1,2-etanodiol] sal de sódio (PAZO), poli(etilenoimina) (PEI), óxido de grafeno (GO), quitosana (CHI) e nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT), foram desenvolvidos quatro tipos de filmes finos pelas técnicas de camada-por-camada (LBL) [26][27] e por *sputtering* (pulverização catódica): (PAH/PAZO)<sub>15</sub>, (PEI/GO)<sub>15</sub>, (CHI/GO)<sub>15</sub> e MWCNT. Os sensores desenvolvidos permitiram detetar em meio aquoso simples (água) e ligeiramente mais complexo (água com a adição de NaCl) pequenas quantidades de triclosan com concentrações de  $10^{-6}$  a  $10^{-12}$  M [23][24].

No segundo trabalho foi desenvolvido um sistema sensorial capaz de detetar moléculas de TCS em baixas concentrações no leite materno. Seguiu-se similarmente o conceito de Língua Eletrónica associado à espectroscopia de impedância como método de deteção. Utilizaram-se filmes finos poliméricos preparados pela técnica de LBL, pulverização catódica e por impressão molecular de polímeros (MIPs). Os valores de impedância foram medidos em soluções aquosas de TCS e em emulsões preparadas a partir de fórmula infantil, usada como substituto do leite materno, contendo TCS dissolvido, tendo sido verificada uma variação significativa dos valores de impedância medidos com o aumento da concentração de TCS nas soluções e emulsões em estudo. Essas diferenças foram mais evidentes em situações de baixa concentração revelando que os métodos usados podem ser considerados na deteção de TCS em leite materno. [25]

Em ambos os trabalhos, ficou comprovada a eficácia de sensores revestidos com filmes finos obtidos pela técnica LBL na deteção de diferentes concentrações de moléculas de TCS. Assim, nesta dissertação, deu-se continuação a este estudo ao desenvolver um sistema sensorial para a deteção e determinação de baixas concentrações de TCS em solução aquosa simples e complexa. Esta solução poderá ser útil não só na monitorização da concentração de TCS presente em corpos de água e na qualidade da água, mas também para verificação da adesão de produtos comercializados às várias legislações, desempenhando um papel importante na proteção e prevenção da saúde pública e no controlo de qualidade da produção industrial e laboratorial.

Os sensores desenvolvidos devem ser capazes de detetar concentrações de TCS desde  $10^{-13} M$  a  $10^{-9} M$  em meio complexo, através do uso de uma Língua Eletrónica baseada num conjunto de sensores em que diferentes filmes finos LBL são depositados sobre suportes sólidos com elétrodos interdigitados. Os filmes finos considerados, cujo comportamento foi analisado em meio aquoso simples (água ultrapura) e meio aquoso complexo (água da torneira), foram constituídos por moléculas que se adequam à deteção de TCS, nomeadamente poli(cloreto de alilamina) (PAH), ácido desoxirribonucleico (DNA), DNA com nanopartículas de ouro (GNPs), poli(etilenoimina) (PEI) e óxido de grafeno (GO), dando origem aos filmes: (PAH/GO)<sub>10</sub>, (PAH/DNA)<sub>10</sub>, (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub>, (PEI/DNA)<sub>10</sub> e (PEI/GO)<sub>10</sub>. Para a caracterização dos sensores e recolha e análise de dados foi utilizada a técnica de espectroscopia de impedância. Os dados obtidos foram ainda analisados através da técnica de Análise de Componentes Principais (PCA) para a classificação e quantificação do TCS presente nas soluções.

## 1.2 Estrutura

Esta dissertação encontra-se dividida em quatro capítulos para além desta introdução. No capítulo 2 encontra-se uma revisão dos conceitos teóricos, nomeadamente técnicas utilizadas para o desenvolvimento de sensores, Língua Eletrónica e espectroscopia de impedância. No capítulo 3 são apresentados os procedimentos e métodos experimentais para a preparação dos sensores, incluindo o seu revestimento com filmes finos, através da utilização da técnica de camada-por-camada (*LBL*). No capítulo 4, são analisados e apresentados os dados recolhidos através da técnica de espectroscopia de impedância e depois analisados através da técnica de Análise de Componentes Principais. Os parâmetros analisados, incluem impedância, ângulo de fase da impedância, capacitância e fator de dissipação, em função da frequência. No capítulo 5 são apresentadas as conclusões finais e algumas das perspetivas futuras.

## Capítulo 2 - Conceitos teóricos



Neste capítulo é efetuada uma revisão dos conceitos teóricos abordados neste trabalho, nomeadamente o conceito e modo de funcionamento de um sensor, o conceito de Língua Eletrónica e de impedância, a técnica de camada-por-camada (Layer-by-Layer, LBL) para a deposição de filmes finos e o método estatístico de Análise de Componentes Principais.

### 2.1 Conceito de Sensor

Um sensor pode ser definido como um dispositivo que altera o seu comportamento pela ação de uma grandeza física no meio que o rodeia, fornecendo direta ou indiretamente um sinal elétrico como resposta a esse estímulo. Esse sinal, por sua vez, é analisado por um instrumento eletrónico que traduz o seu significado. Consoante o estímulo que se pretende medir, existem diferentes tipos de sensores, como por exemplo, sensor de temperatura, de calor, de pressão, de som, de radiação, etc. Nestes casos, o sensor pode ser composto por um transdutor, que converte o sinal emitido pelo sensor num sinal elétrico, para que este possa ser lido pelo instrumento de análise [28][29]. Um transdutor é um dispositivo que converte um tipo de energia ou grandeza física noutro, permitindo no caso dos sensores, traduzir o fenómeno físico ocorrido num sinal compreensível em formato elétrico, mecânico, ótico, entre outros [30][31].

O desenvolvimento de sensores de substâncias em solução aquosa teve a sua origem na década de 60, quando foi criado um sensor a partir de um eléctrodo de prata e de um eléctrodo de platina submersos em solução de cloreto de potássio. Os eléctrodos são isolados com uma membrana de teflon ou polietileno, permeável ao oxigénio, mas impermeável a outras substâncias, e submersos na solução. É então aplicada uma diferença de potencial aos eléctrodos, que resulta na redução eletrolítica do oxigénio, dando origem a correntes eléctricas de baixa intensidade, consoante a concentração de oxigénio existente. Estas correntes são a resposta do sensor à variação de concentração de oxigénio na solução de cloreto de potássio [32].

Neste trabalho estudou-se um sistema de sensores que segue uma metodologia semelhante. O sistema é composto por um sensor, um gerador de sinal e um aparelho medidor de impedância. O sensor é mergulhado num meio aquoso e é aplicado um sinal elétrico, i.e. uma diferença de potencial sinusoidal, cuja frequência é variada. As alterações de comportamento elétrico do sensor em função da frequência do sinal elétrico aplicado são então traduzidas e analisadas pelo medidor de impedância que mede a corrente e a fase da corrente em relação à diferença de fase aplicada que se traduz na medição da impedância. A análise da variação dos valores de impedância ajuda a determinar a sensibilidade de deteção do sensor em causa.

### 2.2 Língua Eletrónica

Para entender melhor o funcionamento dos sensores, é importante estudar a história do desenvolvimento de sensores de substâncias em solução aquosa. Kiyoshi Toko desenvolveu, em 1990 na Universidade de Kyushu, Japão, um sensor de deteção de sabores. Este sensor foi o primeiro na deteção de substâncias em solução aquosa de matriz complexa e também o trabalho que deu origem ao conceito de Língua Eletrónica. Este sensor era composto por diversas membranas de lípidos e polímeros que permitiram transformar os estímulos associados a cada sabor em sinais eléctricos, ou seja, este sensor permitia distinguir uma solução ácida de

uma salgada, doce, amarga ou picante, como por exemplo: café, cerveja e outras bebidas [33][34]. Portanto, funcionava como uma língua humana. Tal como esta, que recebe os estímulos doce, amargo, salgado, etc. e os converte em sinais elétricos que são enviados para o cérebro e analisados, a Língua Eletrônica pode ser definida como “um sistema de sensores capazes de medir a resposta elétrica de um líquido simples ou complexo a um determinado estímulo, com o objetivo de identificar as amostras e classificá-las quantitativa e qualitativamente através de métodos estatísticos” [23][33][34].

Após Toko, começaram a ser desenvolvidos outros sistemas de sensores que incorporavam o conceito de Língua Eletrônica com a técnica de voltametria cíclica. Winkquist, Wide e Lundstrom [35] desenvolveram uma Língua Eletrônica ao analisar medidas de voltametria pelo método de análise de componentes principais, um método de análise multivariada de informações [35]. O protótipo de Língua Eletrônica criado permitia classificar amostras de bebidas, como sumos de frutas, bebidas destiladas e leite, a curto e longo prazo quando armazenados à temperatura ambiente. Através de reações de oxidação e redução, era possível medir a corrente que passava no eletrodo de trabalho duplo de ouro e platina em função do potencial aplicado, que é proporcional à concentração dos compostos que se pretendiam analisar na solução [32][35].

Em 1987, Taylor e Macdonald, analisaram do ponto de vista de componentes elétricos, um eletrodo metálico quando colocado num campo elétrico alternado. Com este trabalho, verificaram que este eletrodo é representado por resistências e condensadores em série e paralelo permitindo a análise de um líquido ao mergulhar os eletrodos interdigitados na solução e medir a resposta elétrica a um sinal alternado [36]. Na consequência deste trabalho, Riul e colaboradores mostraram pela primeira vez que a técnica de análise de impedância podia ser aplicada ao desenvolvimento de sensores e mais concretamente à Língua Eletrônica [37].

Com a necessidade de se desenvolverem sensores capazes de detetar substâncias nocivas ou contaminantes em meio aquoso complexo, quer para garantir a qualidade de produtos quer para garantir a segurança no seu uso, nas áreas da medicina, biotecnologia, micro e nanotecnologia, entre outras, começaram a revestir-se sensores com filmes finos.

Estes filmes finos são depositados sobre os eletrodos interdigitados de ouro em suportes sólidos, feitos de silício, vidro, quartzo ou polímeros. Os filmes finos nanoestruturados são normalmente constituídos por polímeros condutores, polieletrólitos, lípidos e outros compostos orgânicos, que são depositados pela técnica de Langmuir-Blodgett (LB) ou de camada-por-camada (LBL). Os filmes finos permitem conferir propriedades físicas diferentes aos sensores, promovendo ou não a adsorção das moléculas que se pretendem medir sobre o filme fino. Por outras palavras, permitem melhorar a seletividade e sensibilidade dos sensores a substâncias específicas, com substâncias eletricamente ativas que aumentem a interação com a substância que se pretende medir [30][38][39]. De entre os vários tipos de sensores disponíveis, estes últimos, baseados em filmes LBL, parecem ser a melhor escolha para este trabalho uma vez que são por norma sensores muito sensíveis [32][40]. E, portanto, espera-se que estes permitam detetar a substância-alvo num meio aquoso com precisão, neste caso o triclosan. Outros métodos já utilizados para a deteção e análise de triclosan foram referidos no Capítulo 1 desta dissertação [14-19].

No que se refere à Língua Eletrônica, esta está comumente ligada a métodos de medição eletroquímica, como a potenciometria, a amperometria e a voltametria cíclica. No entanto, a medição eletroquímica apesar de versátil, simples e sensível, necessita de um eletrodo de referência e de materiais de medição eletroativos [23]. A Língua Eletrônica conjugada com a espectroscopia de impedância, por outro lado, utiliza apenas os eletrodos interdigitados revestidos com filmes finos, que são mergulhados na solução aquosa com o objetivo de detetar a substância de interesse. As variações de sinal elétrico medidas são então analisadas através da espectroscopia de impedância [30][38][39].

A impedância, por sua vez, pode ser medida quer no domínio do tempo quer no domínio da frequência. No domínio do tempo, todas as frequências são medidas simultaneamente através da sobreposição das suas ondas sinusoidais e aplicação da transformada de Fourier. A tensão

e corrente são representados em função da frequência, dando origem ao espectro de impedância em função da frequência [33]. No domínio da frequência, o espectro de impedância é construído a partir da medição da impedância correspondente a cada uma das frequências discretas do sinal aplicado [17].

## 2.3 Conceito de Espetroscopia de Impedância

Antes de se proceder à análise de um circuito RC, é importante entender as relações básicas de impedância que ocorrem nesse circuito. Num circuito elétrico existem sempre elementos que se opõem à passagem de corrente, como é o caso das resistências (R), das bobinas (L) e dos condensadores (C). À oposição à passagem de corrente dá-se o nome de resistência reativa ou reactância e resulta na dissipação de energia. Esta energia pode ser dissipada na forma de calor, no caso das resistências, ou armazenada em campos magnéticos ou elétricos nestes elementos sem perdas por calor, no caso das bobinas e dos condensadores. Nas bobinas e nos condensadores, a energia é armazenada enquanto existir tensão no circuito e fornecida novamente ao circuito quando deixa de existir tensão aplicada [23][32].

### 2.3.1 Impedância de um Circuito em série

Pode-se considerar impedância a ação conjunta de resistências e reactâncias num circuito elétrico. Nestas condições, a corrente que atravessa o circuito em AC é dada por  $i(t) = I \cdot \cos(\omega t)$ , sendo  $i$  o valor da corrente no instante  $t$  e  $I$  representa a corrente máxima que atravessa o circuito. A diferença de potencial no circuito em cada instante  $t$  é dado por  $v$  [23][32].

Num circuito RLC em série, a diferença de potencial em cada elemento R, L e C, respetivamente  $v_R(t)$ ,  $v_L(t)$  e  $v_C(t)$ , no instante  $t$  é dada por:

$$v_R(t) = R \cdot i(t) = R \cdot I \cdot \cos(\omega t) \quad (2.1)$$

$$v_L(t) = L \cdot \frac{di(t)}{dt} = -\omega \cdot L \cdot I \cdot \sin(\omega t) = \omega \cdot L \cdot I \cdot \cos\left(\omega t + \frac{\pi}{2}\right) \quad (2.2)$$

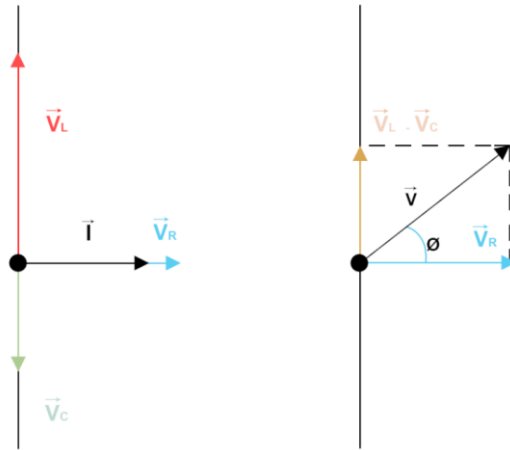
$$v_C(t) = \frac{q}{C} = \frac{1}{\omega C} \cdot I \cdot \sin(\omega t) = \frac{1}{\omega C} \cdot I \cdot \cos\left(\omega t - \frac{\pi}{2}\right) \quad (2.3)$$

A diferença de potencial resultante no circuito é dada por:

$$v(t) = v_R + v_L + v_C = Ri + L \frac{di}{dt} + \frac{q}{C} \quad (2.4)$$

em que  $q$  é a carga que é dada por  $q = \int i dt$ .

Através das expressões 2.1, 2.2 e 2.3, verifica-se que a tensão na resistência  $v_R$  está em fase com a corrente, que a tensão na bobina  $v_L$  está adiantada em  $\frac{\pi}{2}$  e que a tensão aos terminais do condensador  $v_C$  está atrasada em  $\frac{\pi}{2}$ . Se representarmos graficamente as tensões  $v_R$ ,  $v_L$  e  $v_C$ , obtemos o gráfico observado na figura 2.1.



**Figura 2.1 - Representação vetorial do desfasamento entre as tensões em R,L e C do circuito e a corrente I (à esquerda) e da diferença de potencial total resultante da soma das tensões aplicadas ao circuito (à direita) [23].**

Sabendo que os argumentos antes do cosseno representam as amplitudes das diferenças de potencial em R, L e C, respetivamente, obtemos:

$$v_R = R \cdot I \quad (2.5)$$

$$v_L = (\omega \cdot L) \cdot I \quad (2.6)$$

$$v_C = \left(\frac{1}{\omega C}\right) \cdot I \quad (2.7)$$

Se a frequência angular  $\omega$  for um valor constante, a diferença de potencial  $v$  e a corrente  $I$  são diretamente proporcionais. E neste caso, podemos escrever:

$$v_R = R \cdot I \quad (2.8)$$

$$v_L = X_L \cdot I \quad (2.9)$$

$$v_C = X_C \cdot I \quad (2.10)$$

com:

$$X_L = \omega \cdot L \quad (2.11)$$

$$X_C = \frac{1}{\omega C} \quad (2.12)$$

$X_L$  representa a reactância indutiva e  $X_C$  representa a reactância capacitiva. A resistência  $R$  e as reactâncias  $X_L$  e  $X_C$  representam a resistência nestes pontos do circuito à passagem da corrente, numa dada frequência. As expressões 2.9 e 2.10 são análogas à Lei de Ohm (2.8).

Pela aplicação das expressões 2.5, 2.6 e 2.7 e pela observação da figura 2.1, a diferença de potencial total que atua no circuito no instante  $t$ , com os três elementos em série e que é proporcional à corrente máxima que os atravessa, é dada por:

$$v(t) = v_R(t) + v_L(t) + v_C(t) = R \cdot I \cdot \cos(\omega t) + \left(\frac{1}{\omega C} - \omega \cdot L\right) \cdot I \cdot \sin(\omega t) \quad (2.13)$$

Adicionalmente, se aplicarmos a expressão matemática:

$$a \cdot \cos(\omega t) + b \cdot \sin(\omega t) = A \cdot \cos(\omega t + \phi), \text{ com } A = \sqrt{a^2 + b^2} \text{ e } \tan(\phi) = -\frac{b}{a}$$

à equação 2.13, obtemos:

$$v = V \cdot \cos(\omega t + \phi) \quad (2.14)$$

onde:

$$V = I \cdot \sqrt{R^2 + \left(\omega \cdot L - \frac{1}{\omega C}\right)^2} = I \cdot \sqrt{R^2 + (X_L - X_C)^2} \quad (2.15)$$

que com base nas equações 2.8, 2.9 e 2.10, pode ser reescrita:

$$V = I \cdot \sqrt{R^2 + (X_L - X_C)^2} = \sqrt{(R \cdot I)^2 + (X_L \cdot I - X_C \cdot I)^2} = \sqrt{V_R^2 + (V_L - V_C)^2} \quad (2.16)$$

e:

$$\phi = \arctan\left(\frac{\omega \cdot L - \frac{1}{\omega C}}{R}\right) = \arctan\left(\frac{X_L - X_C}{R}\right) \quad (2.17)$$

onde  $\phi$  representa o desfasamento entre a diferença de potencial total e a corrente máxima.

Sabendo que a impedância dos três elementos em série, R, L e C, pode ser representada por Z, podemos reescrever a equação 2.15, como:

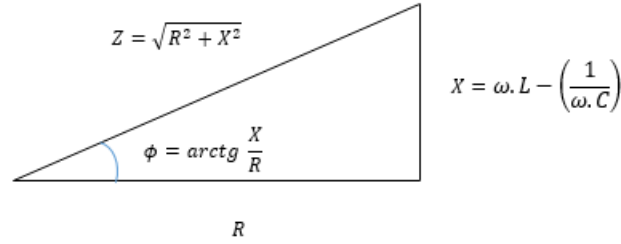
$$V = Z \cdot I \quad (2.18)$$

A equação 2.18 é, assim, também uma equação análoga à Lei de Ohm, onde a impedância Z desempenha num circuito em corrente AC a mesma função que uma resistência equivalente num circuito de corrente DC. E verifica-se mais uma vez uma relação de proporcionalidade direta entre o valor da diferença de potencial total e o valor da corrente máxima.

A impedância do circuito elétrico pode ser expressa através da equação 2.19, que corresponde ao radical da equação 2.15.

$$Z = \sqrt{R^2 + (X_L - X_C)^2} \quad (2.19)$$

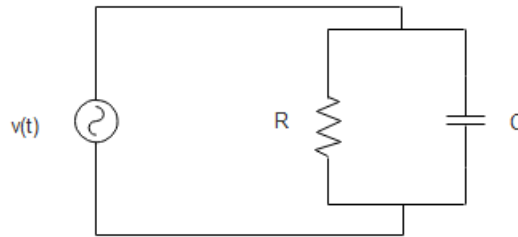
A relação entre impedância (Z), reactância (X), resistência (R) e o desfasamento entre a diferença de potencial total e a corrente máxima ( $\phi$ ), pode ser observada na figura 2.2.



**Figura 2.2 - Relação entre impedância (Z), reactância (X), resistência (R) e o desfasamento entre a diferença de potencial total e a corrente máxima (Ø) aplicadas [23].**

### 2.3.2 Impedância de um Circuito RC paralelo

O sensor utilizado neste trabalho é composto por um suporte sólido de vidro, que é um meio dielétrico, e dois elétrodos condutores de ouro interdigitados paralelos depositados sobre o substrato. Estes dois elétrodos são constituídos por vários “dedos” que são paralelos entre si, mas sem existir contacto uns com os outros, exceto quando em solução, quando a amostra em estudo preenche o espaçamento entre os dedos do sensor. Este tipo de sensor apresenta um funcionamento semelhante ao de um condensador de placas paralelas, em que o campo elétrico gerado por uma diferença de potencial aplicada se move do potencial positivo para o negativo. Assim, o caso de um circuito em corrente AC composto por uma resistência e um condensador em paralelo, semelhante ao observado na figura 2.3, deve ser analisado do ponto da impedância.



**Figura 2.3 – Circuito em AC composto por uma resistência e um condensador em paralelo [23].**

A diferença de potencial aplicada ao circuito da figura 2.3 é dada pela equação 2.14 simplificada:

$$v(t) = V \cdot \cos(\omega t) \quad (2.20)$$

As correntes instantâneas aplicadas na resistência e no condensador são dadas por:

$$i_R = \frac{v}{R} = \frac{V \cdot \cos(\omega t)}{R} = I_R \cdot \cos(\omega t) \quad (2.21)$$

$$i_C = \frac{dq}{dt} = C \frac{dv}{dt} = -\omega \cdot C \cdot \sin(\omega t) = -\frac{V}{X_C} \sin(\omega t) = I_C \cdot \cos\left(\omega t + \frac{\pi}{2}\right) \quad (2.22)$$



A corrente instantânea no circuito é dada pela soma das correntes instantâneas aplicadas na resistência e no condensador, que são representadas por dois vetores perpendiculares entre si e com módulos  $I_R$  e  $I_C$ . O desfasamento entre a corrente  $i$  e a diferença de potencial  $v$  é dado pelo ângulo  $\phi$ . A corrente instantânea no circuito é dada por:

$$i = i_R + i_C = I_R \cdot \cos(\omega t) + I_C \cdot \sin(\omega t) = I \cdot \cos(\omega t + \phi) \quad (2.23)$$

em que:

$$I = \sqrt{i_R^2 + i_C^2} \quad (2.24)$$

e:

$$\phi = \arctan \frac{I_C}{I_R} \quad (2.25)$$

Substituindo as funções trigonométricas por funções exponenciais complexas, através da relação de Euler:  $e^{j\omega t} = \cos(\omega t) + j\sin(\omega t)$ , com  $j = -1$ , a corrente instantânea representada na equação 2.23,  $i = I \cdot \cos(\omega t)$ , pode ser reescrita como:  $i^* = I \cdot e^{j\omega t}$ . Obtém-se também as expressões:  $\frac{di^*}{dt} = j\omega I e^{j\omega t}$  e  $q^* = \frac{1}{j\omega} I e^{j\omega t}$ , a partir de  $q = \int i dt$ .

Aplicando as funções exponenciais à diferença de potencial aplicada num circuito RLC e sabendo que  $i^* = I \cdot e^{j\omega t}$ , a expressão 2.4 referida anteriormente:  $v = Ri + L \frac{di}{dt} + \frac{q}{C}$ , é substituída pela expressão:

$$v^* = \left( R + j\omega L + \frac{1}{j\omega L} \right) \cdot I e^{j\omega t} = \left( R + j\omega L + \frac{1}{j\omega L} \right) \cdot i^* \quad (2.26)$$

A partir da expressão 2.26, obtém-se a expressão da impedância complexa  $Z^*$  (2.27), que é composta pela amplitude dada pelo módulo de  $Z$  (2.19) e pelo ângulo de fase  $\phi$  (2.17), referidos anteriormente.

$$Z^* = \left( R + j\omega L + \frac{1}{j\omega L} \right) = R + j \left( \omega L - \frac{1}{\omega L} \right) = R + j(X_L - X_C) = Z e^{j\phi} \quad (2.27)$$

$$Z = |Z| = \sqrt{R^2 + (X_L - X_C)^2}$$

$$\tan \phi = \frac{X_L - X_C}{R}$$

A equação 2.26, pode ser escrita na forma simplificada:

$$v^* = Z^* \cdot i^* = Z \cdot e^{j\phi} \cdot I e^{j\omega t} = Z \cdot I \cdot e^{j(\omega t + \phi)} \quad (2.28)$$

e cuja parte real é dada por:

$$v(t) = Z \cdot I \cdot \cos(\omega t + \phi) = V \cos(\omega t + \phi) \quad (2.29)$$

Associando várias impedâncias em série num circuito, a impedância resultante seria dada por:

$$Z^* = Z_1^* + Z_2^* + \dots + Z_n^* \quad (2.30)$$

No caso dos sensores utilizados neste trabalho, a espectroscopia de impedância considera que a amostra pode ser substituída por um circuito equivalente composto por uma resistência e um condensador em paralelo, alimentados por uma fonte AC. Assim, a impedância resultante da associação em paralelo da resistência e do condensador,  $Z^*$ , pode ser dada pela equação 2.27, mas desprezando-se a bobina.

Sabendo que neste caso  $Z_1^* = R$  e  $Z_2^* = \frac{1}{j\omega C}$ , e aplicando a equação 2.30, obtemos:

$$Z^* = Z_1^* + Z_2^* = R + \frac{1}{j\omega C} = \frac{R}{1 + j\omega RC} = \frac{R(1 - j\omega RC)}{1 + (\omega RC)^2} = \frac{R}{1 + (\omega RC)^2} - \frac{\omega R^2 C}{1 + (\omega RC)^2}j \quad (2.31)$$

Onde, aplicando o módulo à impedância complexa, obtemos:

$$|Z^*| = Z = \frac{R\sqrt{1 + (\omega RC)^2}}{1 + (\omega RC)^2} \quad (2.32)$$

O espectro da impedância é obtido representando graficamente as partes real (resistência) e imaginária da impedância  $Z^*$  em função da frequência.

Num condensador ideal existe apenas o armazenamento de energia no condensador, sem existir dissipação ou perda. Neste trabalho, os sensores apresentam um comportamento elétrico semelhante a um condensador de placas paralelas, existindo perdas ou dissipação de energia, devido ao suporte sólido escolhido para separar os elétrodos se tratar de um vidro dielétrico. Também as placas do condensador e os contactos nas ligações elétricas oferecem resistência à passagem de corrente. Caso se trate de um circuito em regime DC, ocorrem pequenas correntes de fuga que circulam pelo condensador, devido a portadores de carga livres. Caso de trate de um circuito em regime AC a altas frequências, as perdas são mais significativas, uma vez que o condensador é carregado e descarregado a ritmos elevados que, além da criação de correntes de fuga, aumenta a dissipação de energia sob a forma de calor.

Num condensador ideal em regime AC, a tensão está atrasada  $\phi = \frac{\pi}{2}$  relativamente à corrente.

Num condensador real, a tensão está atrasada  $\phi = \frac{\pi}{2} - \delta$  relativamente à corrente, onde  $\phi$  é o ângulo de diferença de fase e  $\delta$  é o ângulo de perda. Quanto maior o ângulo de perda, pior a qualidade do condensador. O fator de dissipação é dado pela tangente de  $\delta$ ,  $\tan \delta$ .

No caso do circuito composto por uma resistência e um condensador em paralelo, o fator de dissipação é dado por:

$$\tan \delta = \frac{1}{\omega R_p C_p} \quad (2.33)$$

No caso do circuito composto por uma resistência e um condensador em série, o fator de dissipação é dado por:

$$\tan \delta = \omega R_s C_s \quad (2.34)$$

Se quisermos relacionar o valor da resistência com o valor da reactância do condensador, obtemos a expressão:

$$\tan \delta = \frac{R_s}{X_s} = \frac{X_p}{R_p} \quad (2.35)$$

Onde quanto menor for  $R_s$  relativamente a  $X_s$  ou quanto maior for  $R_p$  em relação a  $X_p$ , menor é o fator de dissipação associado ao condensador e melhor é a sua qualidade. Um condensador é considerado de qualidade, quando as perdas de energia são baixas, ou seja, aproximadamente quando  $\tan \delta < 0.1$  [23].

### 2.3.3 Espectroscopia de Impedância

A espectroscopia de impedância pode ser definida como um método de caracterização que permite estudar o comportamento elétrico de um determinado material. É aplicado um sinal elétrico, de tensão ou corrente conhecida, a um eléctrodo interdigitado em contacto com esse material e analisadas as variações de sinal elétrico medidas na superfície do eléctrodo. É útil no estudo do comportamento de materiais iónicos, semicondutores, dieléctricos e dispositivos electrónicos [23][41][25]. Neste trabalho, estudou-se o comportamento elétrico do TCS quando em meio aquoso e quando em contacto com diferentes camadas de outros materiais depositadas sobre o eléctrodo interdigitado. Usou-se um gerador de sinal para fornecer um sinal de tensão alternada sinusoidal ao eléctrodo e foi medida a parte real e imaginária da impedância em função da frequência [23].

## 2.4 Filmes finos e técnica de camada-por-camada

Como referido na secção 2.2, sobre os eléctrodos interdigitados de ouro podem ser depositados filmes finos para melhorar a seletividade e sensibilidade dos sensores a substâncias específicas. Este revestimento é por norma composto por polímeros condutores, polieletrólitos, lípidos e outros compostos orgânicos, que alteram as propriedades físicas dos sensores para permitir a adsorção das moléculas na superfície do filme. Estes polímeros tratam-se de substâncias eletricamente ativas que aumentam a interação com a substância que se pretende medir. As técnicas de construção de filmes finos podem incluir deposição, por Langmuir-Blodgett (LB), camada-por-camada (LBL), ou pulverização. Para o âmbito deste trabalho, foi apenas relevante referir a técnica de LBL.

### 2.4.1 Polieletrólitos

Os polieletrólitos são polímeros que apresentam grupos ionizáveis positivos ou negativos, ao longo da cadeia, que podem ser classificados de acordo com a carga elétrica do seu grupo funcional em catiónicos e aniónicos, respetivamente. Alguns exemplos de polieletrólitos são PDAC (poli(cloreto de dimetildialilamónia)), PVS (poli(ácido vinilsulfónico)) e PAA (poli(ácido acrílico)) [42]. O PEI (poli(etilenoimina)), o PAH (poli(cloreto de alilamina)), o PAZO (poli[1-[4-(3-carboxi-4-hidroxifenilazo)-benzenesulfonamida]-1,2-etanodiol] sal de sódio]) e o PSS (poli(estireno sulfonado)) são exemplos de polieletrólitos já usados em trabalhos anteriores realizados na FCT-UNL e que apresentaram bons resultados no âmbito da construção de filmes finos [23][25].

Os polieletrólitos conjugados são polímeros compostos por monómeros com ligações duplas conjugadas e cadeias adjacentes com grupos iónicos não-metálicos, que podem ser aniónicos

ou catiónicos, conforme o seu grupo funcional. As ligações duplas conjugadas e as interações entre as cadeias adjacentes, fazem com que estes polímeros sejam hidrofóbicos e pouco solúveis em água [42][43]. No entanto, os grupos iónicos são solúveis em água, tornando os polieletrólitos conjugados também solúveis em água, sem sacrificar as propriedades óticas e optoelectrónicas características do polímero. Os polieletrólitos conjugados são então materiais anfifílicos (simultaneamente hidrofílicos e hidrofóbicos) [44].

Quando em solução, dependendo da percentagem de monómeros ionizados, os grupos iónicos são parcialmente ionizados, obtendo-se cadeias poliméricas com densidades de carga variáveis. A densidade de carga é dependente do pH da solução e das forças iónicas. Os polieletrólitos conjugados tendem a organizar-se entre si, quer para formar agregados devido às interações hidrofóbicas e eletrostáticas que ocorrem entre as suas cadeias adjacentes, quer para formar outras estruturas complexas, quando em contacto com surfactantes. Além disso, os polieletrólitos conjugados têm também boa absorção na região do visível e podem apresentar fluorescência no estado excitado e condutividade. Estas propriedades tornam-nos ideais para serem utilizados em sensores, principalmente em técnicas que envolvam sobreposição de camadas de polímeros [43][44].

## **2.4.2 Técnica de camada-por-camada**

A técnica de camada-por-camada (layer-by-layer, em inglês, LBL), também chamada de automontagem (self-assembly), trata-se de uma técnica de produção de filmes finos que consiste na deposição alternada de materiais carregados eletricamente de sinais opostos sobre um suporte sólido, cujas moléculas interagem fisicamente entre si e com este. O suporte quando carregado positiva ou negativamente à superfície e mergulhado numa solução de polieletrólito de sinal oposto, adsorve moléculas no suporte para compensar a carga positiva ou negativa do substrato. Após a deposição da primeira camada, lava-se o substrato com uma solução aquosa do mesmo pH que as soluções de polieletrólitos, neste caso, água ultrapura, para remover as moléculas que não se encontram completamente adsorvidas e garantir que permaneça apenas uma monocamada fortemente adsorvida. Por fim, seca-se a camada com jato de azoto. O substrato é então mergulhado numa solução de polieletrólito carregado de sinal oposto ao polieletrólito depositado inicialmente. Esta monocamada é também adsorvida e forma-se uma bicamada. Novamente lava-se o substrato e seca-se a bicamada adsorvida no suporte sólido com jato de azoto. O procedimento anterior é repetido até se obter o número desejado de bicamadas [32][42].

A técnica de LBL permite o controlo da arquitetura do filme e o controlo molecular de espessuras com alguma precisão. É uma técnica simples e de baixo custo, quer em termos de metodologia quer em termos de equipamento necessário [32][42].

Comparando com a técnica de Langmuir-Blodgett (LB), por exemplo, a técnica de LBL tem a vantagem de não estar limitada ao uso de moléculas insolúveis em água, permitindo produzir filmes finos a partir de moléculas hidrossolúveis, o que aumenta consideravelmente a variedade de materiais que podem ser utilizados. A técnica de LBL é também independente do substrato ou dos polieletrólitos escolhidos. Os suportes sólidos usados são normalmente de vidro, quartzo, mica ou ouro. A técnica de LBL além de ser mais viável economicamente, é útil e eficiente nas aplicações onde é implementada, particularmente nas aplicações de dispositivos para eletrónica, fónica e sensores. No entanto, LBL é uma técnica em que as moléculas nas camadas se encontram menos organizadas em comparação com as camadas obtidas pela técnica Langmuir-Blodgett [32][42].

## 2.5 Análise de Componentes Principais

A Análise de Componentes Principais (Principal Component Analysis, em inglês, PCA) é uma técnica de análise multivariada, desenvolvida por Pearson (1901) e Hotelling (1933), que permite analisar estatisticamente e simultaneamente uma grande quantidade de resultados experimentais sem perdas significativas de informação, ao estabelecer relações entre as variáveis mais relevantes. O conjunto de variáveis correlacionadas medidas é convertido num conjunto menor de novas variáveis não correlacionadas, as Componentes Principais, possibilitando uma melhor compreensão do fenómeno em análise e a eliminação de variáveis originais com pouca informação. Cada componente principal resulta da combinação linear de todas as variáveis iniciais, de acordo com a sua informação estatística. A primeira componente principal é aquela que apresenta maior informação estatística e maior variância. Cada componente seguinte é ortogonal às anteriores e é apresentada por ordem decrescente de variância. Ao obter as componentes principais, esta técnica permite agrupar observações semelhantes pela interpretação de gráficos bidimensionais [23][25][45][46]. Para a análise de dados e obtenção de componentes principais deste trabalho, usou-se o programa disponibilizado em: <http://folk.uio.no/ohammer/past/>.



## Capítulo 3 - Procedimentos Experimentais

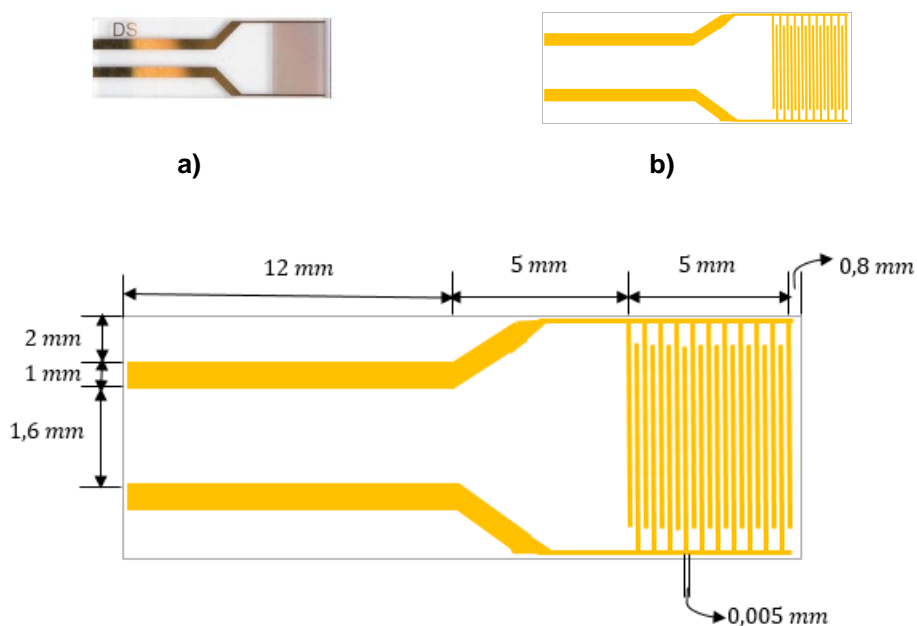
# 3

Neste capítulo são apresentados os procedimentos e métodos experimentais para a preparação dos sensores.

### 3.1 Seleção de sensor e polímeros

#### 3.1.1 Sensores interdigitados

Os sensores utilizados neste trabalho são sensores adquiridos à empresa Dropsens. São sensores compostos por um substrato dielétrico de vidro BK7 e dois elétrodos condutores de ouro interdigitados depositados sobre o substrato (figura 3.1). Estes sensores têm  $22.8\text{ mm}$  de comprimento,  $7.6\text{ mm}$  de largura, e  $5\text{ }\mu\text{m}$  de espessura de “dedos” e espaço entre “dedos”, como pode ser observado na figura 3.1 c).



**Figura 3.1 - a) Fotografia do sensor interdigitado [47], b) esquema que mostra a separação de  $10\mu\text{m}$  entre os “dedos” de cada banda do eletrodo interdigitado [23], c) Representação das dimensões do sensor adquirido à empresa Dropsens [23]**

O seu princípio de funcionamento é semelhante ao de um condensador: as bandas condutoras de ouro funcionam como as placas de um condensador, não se tocam, e quando é aplicada uma diferença de potencial entre as mesmas, forma-se um campo elétrico do potencial positivo para o negativo. Quando se mergulha o sensor numa amostra ou solução aquosa, esta preenche o espaçamento entre as duas bandas do sensor.

Graças a esta configuração específica do sensor é permitido um aumento da sensibilidade e dos limites de detecção, relativamente a outros sensores do mesmo tipo. Este sensor permite trabalhar com concentrações de amostra de até  $10^{-6} \text{ g/mL}$  e a capacitância medida mantém-se constante, a menos que existam alterações na espessura dos filmes finos depositados. Assim, o sensor quando imerso numa solução, pode ser analisado como um conjunto de regiões que podem ser representadas por uma resistência e condensador em paralelo e que, portanto, têm o comportamento de um circuito elétrico. Estas regiões podem ser descritas pela figura 3.2, onde o substrato de vidro com o eletrodo interdigitado de ouro e também a chamada camada sensorial, que é representada pelo filme depositado, a dupla camada de iões positivos ou negativos criada pela imersão do sensor na solução a ser analisada, e a solução aquosa onde o eletrodo é mergulhado para análise, com recurso a um aparelho medidor de impedância, para medição das alterações das propriedades elétricas à superfície do eletrodo.



**Figura 3.2 - Diagrama esquemático das várias camadas que compõem o sensor utilizado, depois de produzido**

A capacitância do sensor depende da espessura da camada sensorial e da distância entre dedos, ligada diretamente à metalização do sensor, representada por  $\eta$ . A largura de cada “dedo” é representada por  $W$ , e a distância entre “dedos” por  $G$ , podendo a metalização ser calculada através da seguinte expressão:

$$\eta = \frac{W}{W + G} \quad (3.1)$$

O valor de  $\eta$  é adimensional e é dado num valor decimal, que pode ser transformado em percentagem e que influencia a resposta em frequência do sensor. No caso dos sensores da Dropsens, como pode ser observado na figura 3.1 c), cada “dedo” tem  $5 \mu\text{m}$  de largura ( $W$ ) e  $5 \mu\text{m}$  de distância entre “dedos”, resultando no valor de 0.5 ou 50% para  $\eta$ , significando que existe 50% de metalização, ou seja, metade da área sensorial está metalizada [23].

Sabendo que a espessura da camada sensorial está diretamente relacionada com a sensibilidade do sensor e dos limites de detecção, espera-se que a deposição de filmes finos sobre os sensores *Dropsens* ajude a melhorar os resultados obtidos [25].



### 3.1.2 Materiais para a produção de filmes finos

Como referido, os sensores interdigitados foram revestidos com filmes finos, através da utilização da técnica de LBL, com o objetivo de melhorar a sensibilidade dos mesmos. Para tal, analisaram-se polímeros compatíveis com a deteção de TCS, uma vez que qualquer par de polieletrólitos é compatível com a produção de filmes finos.

Com base em experiências anteriores, recorreu-se à utilização de um conjunto de polímeros já conhecidos e cuja eficiência em aplicações semelhantes já foi comprovada. Estes polímeros foram utilizados para produzir cinco pares de filmes finos, cada um composto por dez bicamadas. Cada bicamada é composta por uma monocamada catiónica e uma monocamada aniónica, que aderem entre si por interação eletrostática. Todos os polímeros assim como o GO foram adquiridos à empresa *Sigma-Aldrich* e preparados em solução à temperatura de  $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$  com água ultrapura Mili-Q, fornecida pelo sistema da Milipore, com uma resistividade de  $R = 18,2\text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ . As GNPs foram adquiridas na forma de ouro coloidal de 20 nm à *BBI Solutions*.

Na camada sensorial (PAH/DNA)<sub>10</sub>, a fim de se testar as propriedades de deteção da molécula de triclosan pelo ácido desoxirribonucleico, em inglês *Desoxyribonucleic Acid*, DNA, escolheu-se o par de polieletrólitos PAH/DNA. Para a monocamada catiónica foi escolhido o poli(cloreto de alilamina), em inglês *poly(allylamine hydrochloride)*, PAH, devido a ser um polímero já anteriormente estudado pelo grupo de Sistemas Moleculares Funcionais do CEFITEC. O PAH é um polieletrólito catiónico composto por uma cadeia de monómeros com um grupo catiónico  $\text{NH}_3^+$  ligado a um anião  $\text{Cl}^-$ , que pode ser observado na figura 3.3 a). Este polímero possui um peso molecular médio de  $M_w = 93,56\text{ g/mol}$  e é classificado como irritante, pelo que se aconselha o uso de bata, de luvas e de óculos de proteção para o seu manuseamento [48][23][25]. Para a monocamada aniónica foi escolhido o DNA, cuja estrutura molecular pode ser observada na figura 3.3 b), é a estrutura base dos organismos vivos e tem sido fundamental na área da biotecnologia e dos biossensores [49][50]. A biotecnologia tem tornado possível controlar sequências personalizadas de DNA e inclui-las em outras aplicações, como na produção de filmes finos [49][51]. Uma vez que o PAH pode ligar-se com o DNA electrostaticamente e através da intercalação com os pares base do DNA, o DNA pode ser incorporado nos filmes LBL assim em como em outros para o desenvolvimento de sensores bioquímicos [49][52-54].

Na camada sensorial (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub> mantiveram-se as escolhas iniciais dos polieletrólitos catiónico PAH e aniónico DNA, mas ao segundo foram adicionadas nanopartículas de ouro, em inglês *gold nanoparticles*, GNPs. Estudos na área dos biossensores demonstraram que as GNPs ajudam a criar uma superfície de fixação entre as camadas compostas por polímeros catiónico e aniónico e também a melhorar significativamente a sensibilidade dos biossensores. Estes resultados devem-se às características físicas e químicas das GNPs, que são bons condutores e têm boas superfícies de fixação [53][55].

Na camada sensorial (PEI/DNA)<sub>10</sub> utilizou-se como monocamada catiónica o polímero poli(etilenoimina), em inglês *poly(ethylenimine)*, PEI, e para a monocamada aniónica DNA. O PEI é um polieletrólito catiónico composto por uma estrutura em cadeia ramificada, composta por grupos aminas primárias ( $R_1\text{-NH}_2$ ), secundárias ( $R_1R_2\text{NH}$ ) e terciárias ( $R_1R_2R_3\text{N}$ ), como pode ser observado na figura 3.3 c). O PEI é utilizado no estado líquido e apresenta uma diluição de 50% em água. Este polímero possui um peso molecular médio de  $M_w = 750\text{ g/mol}$  e é classificado como tóxico para organismos subaquáticos, sendo importante evitar a sua libertação para o meio ambiente. É comumente utilizado como precipitante de proteínas de ácidos nucleicos e no pré-tratamento de filtros para aumentar a ligação de proteínas [23][25][56].

Na camada sensorial (PAH/GO)<sub>10</sub> prepararam-se filmes de LBL a partir do polieletrólito catiónico PAH para a monocamada catiónica e para a monocamada aniónica foi escolhido o óxido de grafeno, em inglês *graphene oxide*, GO. O grafeno é um polímero organizado numa estrutura cristalina hexagonal de átomos de carbono bidimensional, com a espessura de um átomo. O GO, por sua vez, é formado através da oxidação do grafeno quimicamente modificado, o que o torna mais compatível com polímeros orgânicos e de fácil diluição em água. As propriedades do GO

incluem elevada condutividade térmica e elétrica, elevada flexibilidade, área de superfície e transparência [57][23][25]. Devido às suas propriedades mecânicas, físicas e térmicas tem muitas aplicações, desde isolante elétrico, a semicondutor, semimetal, a componente na produção de sensores ou no desenvolvimento de dispositivos eletrônicos e optoeletrônicos, como as células solares [58][59]. O modelo da sua estrutura molecular, segundo a configuração de Lerf-Klinowski, que pode ser observada na figura 3.3 d), consiste numa rede de estruturas hexagonais de átomos de carbono ligadas a grupos carboxilos (-COOH), com hidroxilos (OH-) e epóxidos (-O-) nas extremidades [60][61][23][25]. Para a produção de filmes finos, o GO é sempre previamente diluído em solução aquosa.

Na camada sensorial (PEI/GO)<sub>10</sub> prepararam-se filmes de LBL a partir do polieletrólito catiónico PEI e para a monocamada aniônica foi escolhido óxido de grafeno, GO.

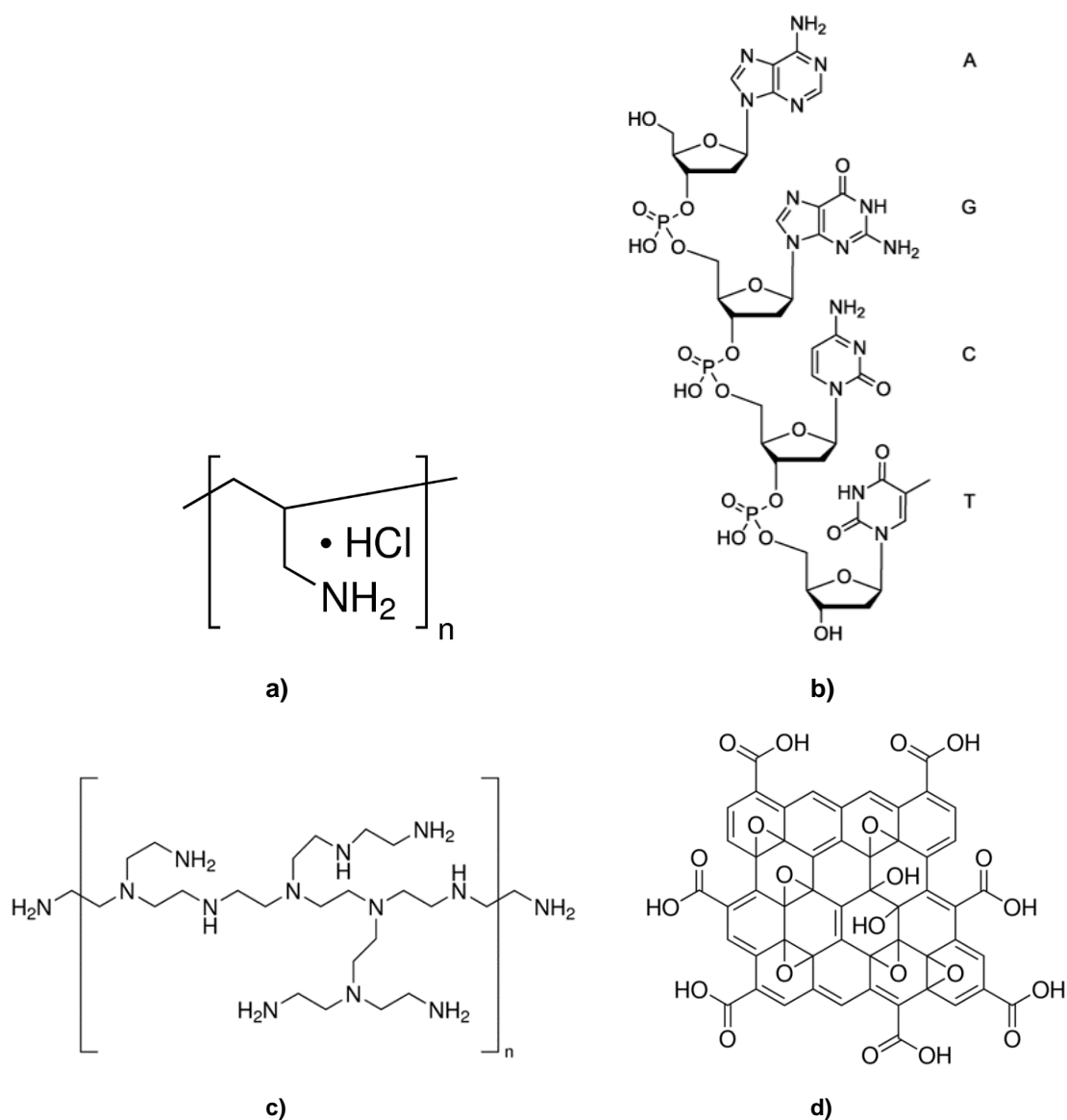


Figura 3.3 - a) Estrutura molecular do PAH [48], b) estrutura molecular do DNA [52], c) estrutura molecular do PEI [56], d) estrutura molecular do GO [61]

## 3.2 Preparação de filmes finos pela técnica de camada-por-camada

### 3.2.1 Preparação inicial

Antes de se proceder à preparação de soluções foi necessário limpar todo o material de laboratório que estaria envolvido na sua produção. Com recurso a solução piranha, procedeu-se à limpeza dos balões volumétricos com tampa, onde as soluções ficariam armazenadas, assim como pipetas volumétricas, gobelés, provetas e outros instrumentos de medida, de modo a eliminar quaisquer impurezas ou resíduos que pudessem vir a contaminar as futuras soluções e alterar os resultados obtidos.

A solução piranha é uma solução extremamente corrosiva que funciona por reação ácido-base. É composta por sete partes de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) e três partes de peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ), que reagem entre si e com quaisquer impurezas ou resíduos presentes, fazendo com que estes se libertem do vidro dos utensílios de laboratório. Para a sua produção é necessário o uso de luvas de proteção, bata de corpo inteiro e máscara de proteção, não só para evitar queimaduras como para evitar a inalação de qualquer vapor. A solução piranha deverá ser produzida num sistema elétrico de ventilação e iluminação e afastada de qualquer fonte de calor, superfície quente, chama ou fonte de ignição.

Tento em conta os princípios de segurança, preparou-se uma solução piranha de 100mL. Juntaram-se 70mL de ácido sulfúrico a 30mL de peróxido de hidrogénio (ácido sobre a base), com o auxílio de provetas e pipetas volumétricas. Visto tratar-se de uma solução extremamente corrosiva e que liberta uma grande quantidade de calor quando ocorre a reação entre o ácido e a base (reação exotérmica), foi necessário deixar a solução arrefecer durante cinco a dez minutos para que as temperaturas elevadas não partissem os vidros dos recipientes a limpar.

Após este período de espera, os balões volumétricos são submersos em solução piranha durante trinta minutos (até vinte e quatro horas, no caso de terem impurezas muito incrustadas). As tampas dos balões volumétricos são colocadas em solução piranha durante cinco minutos apenas, para evitar a sua deformação. Quando necessário, os utensílios de laboratório poderão ser submersos em solução piranha e em ultrassons durante meia hora para ajudar à libertação de resíduos. Após a primeira meia hora e a cada quinze minutos de ultrassons, a solução piranha deverá ser substituída por água ultrapura.

Após o período de limpeza com solução piranha e ultrassons, todos os utensílios (provetas, gobelés, balões volumétricos, pipetas e outros) são lavados entre cinco a dez vezes com água ultrapura. Ou seja, devem ser lavados abundantemente para remover qualquer resíduo de solução piranha e deixados a secar.

### 3.2.2 Preparação das soluções dos polímeros escolhidos

Como referido na secção 3.1.2, os materiais escolhidos para a produção de filmes finos foram PAH, PEI, DNA, GNPs e GO. Visto alguns destes materiais serem considerados substâncias irritantes, todo o processo experimental foi efetuado na HOTTE, tendo sido utilizadas sempre bata e luvas de proteção no manuseamento das substâncias e preparação das soluções. Todos estes materiais foram medidos e diluídos em água ultrapura Mili-Q.

A solução de PAH foi produzida com uma concentração de  $[PAH] = 0,96mg/mL$ . Inicialmente obtiveram-se 94,28 mg de PAH para 50 mL de água ultrapura, por isso foi necessário diluir a solução de PAH para se obter a concentração pretendida.

A solução de PEI foi produzida com uma concentração de  $[PEI] = 4,92mg/mL$ . Dado o seu elevado grau de viscosidade, foi mais difícil trabalhar com quantidades menores. Inicialmente

obtiveram-se 988,5 mg de PEI para 50 mL de água ultrapura, tendo sido necessário diluir para se obter a concentração desejada.

A solução de DNA foi produzida com uma concentração de  $[DNA] = 0,52\text{mg/mL}$ . Inicialmente obtiveram-se 28,6 mg de PAH para 50 mL de água ultrapura.

As GNPs foram obtidas na forma de ouro coloidal com 20 nm de dimensão e diluídas para produzir uma solução com uma concentração de  $[GNPs] = 0,52\text{mg/mL}$ . A solução de DNA+GNPs foi produzida a partir da diluição da solução de GNPs com uma concentração de  $[GNPs] = 0,52\text{mg/mL}$  na solução de DNA com uma concentração de  $[DNA] = 0,52\text{mg/mL}$ .

O GO foi obtido com uma concentração de  $[GO] = 4\text{mg/mL}$  disperso em  $\text{H}_2\text{O}$  e diluído para produzir uma solução de GO com uma concentração de  $[GO] = 0,94\text{mg/mL}$ . Inicialmente mediram-se 2mL de GO puro (líquido) que foi diluído em 25mL de água ultrapura e consequentemente diluído várias vezes até se obter a concentração pretendida. Na produção desta solução, foi necessário ainda filtrar resíduos de GO que se encontravam em suspensão.

### 3.2.3 Aplicação da técnica de camada-por-camada

Os polímeros escolhidos têm como objetivo aumentar a sensibilidade dos sensores à presença da substância de interesse, neste caso, o TCS. Os elétrodos funcionam como material condutor. A deposição dos filmes finos permite conferir diferentes propriedades físicas aos sensores que poderão melhorar a interação desejada. Embora existam técnicas variadas para a produção e deposição de filmes finos em substratos, como *sputtering* (pulverização catódica), *spin-coating*, eletroquímica e Langmuir-Blodgett, a técnica escolhida para este trabalho foi a técnica de LBL. Uma vez que se trata de um método simples e barato, que permite controlar a espessura do filme fino em função do número de bicamadas escolhido, e já foi usada em sensores com a apresentação de bons resultados [23][25].

Os filmes finos LBL preparados foram os seguintes:  $(\text{PAH/GO})_{10}$ ,  $(\text{PAH/DNA})_{10}$ ,  $(\text{PAH/DNA+GNPs})_{10}$ ,  $(\text{PEI/DNA})_{10}$  e  $(\text{PEI/GO})_{10}$ . Estes filmes foram produzidos em duplicado para testar a sua reprodutibilidade. O esquema do procedimento experimental pode ser observado na figura 3.4. A região dos elétrodos interdigitados de cada sensor foi submersa em solução aquosa catiónica (PAH ou PEI), durante sessenta segundos, para adsorção das moléculas carregadas na sua superfície por interação eletrostática. De seguida, cada sensor foi passado por água ultrapura para remoção das moléculas não adsorvidas. Novamente, cada sensor é parcialmente submerso numa solução aquosa aniónica (GO, DNA ou DNA+GNPs), durante sessenta segundos, para adsorção das moléculas de carga oposta, dando origem a uma bicamada de filmes finos. As monocamadas aderem entre si por interação eletrostática, uma vez que os pares de polímeros escolhidos têm cargas opostas. No final de cada bicamada, é efetuada a secagem desta com uma pistola de azoto e repetido o processo anterior até se obterem dez bicamadas para cada sensor. Após a deposição das dez bicamadas, esperou-se um período mínimo de vinte e quatro horas, para garantir a secagem total e uniforme dos sensores, ver figura 3.5. Posteriormente procedeu-se ao teste e análise dos sensores em soluções aquosas de TCS. O período de imersão dos substratos em solução aquosa pode variar, desde que se garanta a adsorção dos filmes ao substrato. O número de bicamadas varia consoante a espessura do filme que se pretende obter.

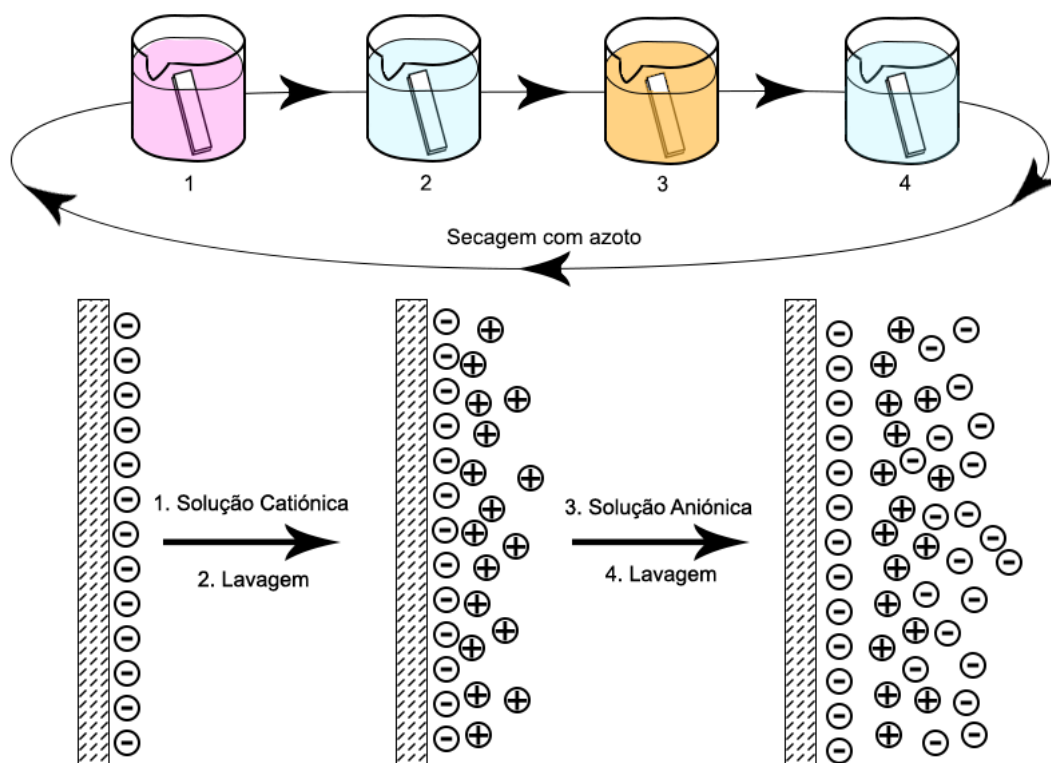


Figura 3.4 - Procedimento experimental usado para compor os filmes finos [62]: 1) o substrato sem revestimento é mergulhado numa solução catiónica durante 60 segundos, dando origem à primeira camada; 2) o sensor é lavado em água ultrapura para retirar o excesso de partículas fisicamente adsorvidas; 3) o substrato é mergulhado numa solução aniónica para criar a segunda camada do filme; 4) o sensor é lavado em água ultrapura para retirar o excesso de partículas fisicamente adsorvidas, e repetido o procedimento mais nove vezes, de modo a obter as dez bicamadas desejadas. Entre cada repetição, o sensor passa por uma ligeira secagem com azoto para “estabilizar” a bicamada criada.



Figura 3.5 - Sensores preparados com diferentes revestimentos de filmes finos

### 3.3 Preparação de soluções de triclosan para análise

Finalmente, procedeu-se à preparação de soluções aquosas de TCS para análise do funcionamento dos sensores com revestimentos. Similarmente às normas de segurança seguidas na preparação dos filmes finos, durante esta parte do procedimento experimental foram utilizadas luvas para proceder à preparação e diluição das soluções de TCS. O manuseio do TCS e outras substâncias tóxicas ou irritantes foi feito com o máximo cuidado, devido aos riscos para a saúde.

#### 3.3.1 Preparação das “solução-mãe” de triclosan

Para a preparação das soluções de TCS foi preciso ter em conta as características do TCS. As mais importantes são o seu peso molar,  $M(C_{12}H_7Cl_3O_2) = 289,54 \frac{g}{mol} = 289540 \frac{mg}{mol}$  e de que este é muito pouco solúvel em água [63]. Deste modo, escolheu-se o metanol como solvente para efetuar a dissolução do TCS. Queria-se produzir uma solução inicial de TCS com uma concentração de  $10^{-3}M$  ou de  $10^{-3} mol/L$ , assim dever-se-ia pesar  $2,8954 mg$  de TCS em pó para  $10 mL$  de metanol, para obter uma concentração mássica de  $c = 0,28954 \frac{mg}{mL} = 0,28954 \times 10^3 \frac{mg}{L}$ . Como pode ser demonstrado pela equação 3.1:

$$C\left(\frac{mol}{L}\right) = \frac{massa}{volume} = \frac{c(mg/L)}{M(mg/mol)} = \frac{0,28954 \times 10^3 \left(\frac{mg}{L}\right)}{289540 \left(\frac{mg}{mol}\right)} = 1 \times 10^{-3} \left(\frac{mol}{L}\right) \quad (3.1)$$

No entanto, para a preparação da solução-mãe, solução inicial de TCS, decidiu-se duplicar a quantidade de TCS para a mesma quantidade de metanol. Pesaram-se  $7,2385 mg$  de TCS e em vez de o diluir em  $25 mL$  de metanol, este foi diluído em  $12,5 mL$  de metanol num balão volumétrico, mesmo assim mantendo a concentração de  $10^{-3}M$  de TCS desejada. Após efetuada a dissolução parcial do TCS no metanol, o balão volumétrico com a solução-mãe foi colocado num agitador durante 30 minutos para homogeneização das substâncias.

Após garantir que a solução-mãe estava homogênea, prepararam-se 12 balões volumétricos de  $5 mL$ . No primeiro balão volumétrico foram inseridos  $5 mL$  da solução-mãe de TCS e metanol concentração de  $10^{-3}M$ . Para o segundo balão volumétrico, retiraram-se  $500 \mu L$  da solução-mãe de concentração de  $10^{-3}M$  e juntaram-se com  $4,5 mL$  de metanol, ficando uma solução com uma concentração de  $10^{-4}M$ . Do segundo balão volumétrico, foram retirados  $500 \mu L$  e colocados no terceiro junto com  $4,5 mL$  de metanol. E assim por diante até se obter a solução de TCS e metanol com  $10^{-12}M$  de TCS. As soluções-mãe de TCS preparadas em metanol podem ser observadas na figura 3.6. Usando este método, garante-se que a quantidade de metanol presente em cada solução é a mesma. A única variável são as concentrações de TCS, garantindo que possíveis alterações verificadas nas medidas se devem exclusivamente à variação das concentrações de triclosan.



**Figura 3.6 - Soluções-mãe de TCS preparadas em metanol, com concentrações de  $10^{-3}M$  a  $10^{-12}M$**

### 3.3.2 Preparação de soluções de TCS através de diluição

Para a preparação das soluções de TCS em água ultrapura, foi também preciso preparar 12 balões volumétricos de 5mL e seguiu-se um processo de diluição semelhante ao anterior. Da solução-mãe de TCS e metanol de concentração de  $10^{-3}M$ , foram retirados 500  $\mu L$  e inseridos no primeiro balão volumétrico com 4,5 mL de água ultrapura para perfazer os 5mL. Esta primeira solução de TCS e água ultrapura possui uma concentração de TCS de  $10^{-4}M$ . Para o segundo balão volumétrico, foram retirados 500  $\mu L$  da solução-mãe de concentração de  $10^{-4}M$  e juntos com 4,5 mL de água ultrapura, e assim por diante, até se obter uma solução de TCS e água ultrapura de concentração de  $10^{-13}M$ . Para estas soluções garante-se igualmente que a quantidade de metanol presente em cada solução é a mesma ( $\sim 10\%$  da solução). As soluções de TCS preparadas em água ultrapura podem ser observadas na figura 3.7.



**Figura 3.7 - Soluções de teste de TCS preparadas em água ultrapura, com concentrações de  $10^{-4}M$  a  $10^{-13}M$ .**

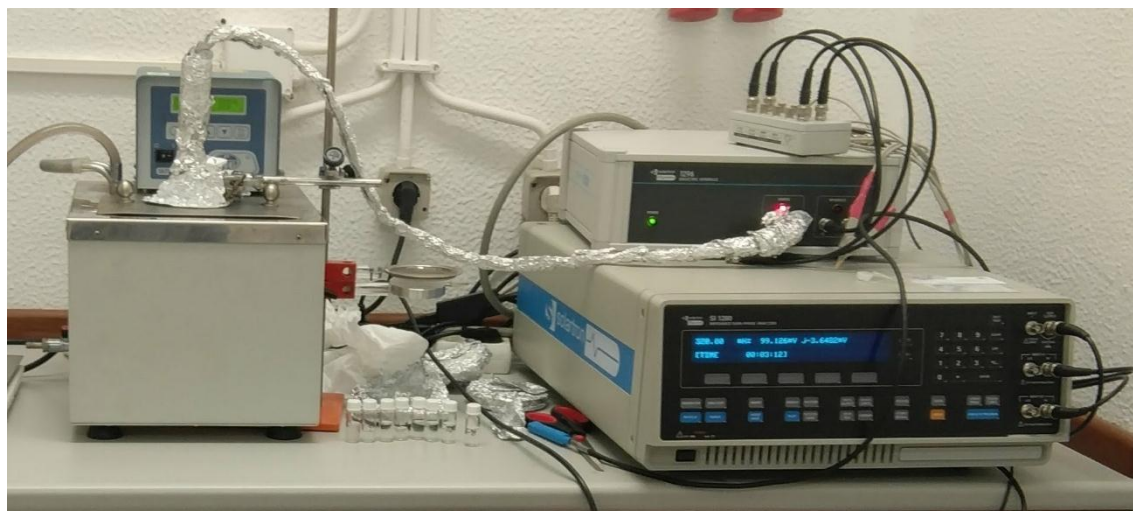
Para a preparação das soluções de TCS em água da torneira, foi seguido um processo semelhante ao descrito para as soluções de TCS em água ultrapura. Foram preparados 12 balões volumétricos de 5mL. Da solução-mãe de TCS e metanol de concentração de  $10^{-3}M$ , foram retirados 500  $\mu L$  e inseridos no primeiro balão volumétrico com 4,5 mL de água da torneira para perfazer os 5mL. Esta primeira solução de TCS e água da torneira possui uma concentração de TCS de  $10^{-4}M$ . Para o segundo balão volumétrico, foram retirados 500  $\mu L$  da solução-mãe de concentração de  $10^{-4}M$  e juntos com 4,5 mL de água da torneira, e assim por diante, até se obter uma solução de TCS e água da torneira de concentração de  $10^{-13}M$ . Para estas soluções garante-se igualmente que a quantidade de metanol presente em cada solução é a mesma ( $\sim 10\%$  da solução).



Após a produção de todas as soluções, soluções-mãe, soluções de TCS em água ultrapura e soluções de TCS em água ultrapura, estas foram armazenadas no frigorífico até ao dia seguinte, para conservação e redução da degradação do TCS e para arrefecimento das soluções antes do seu uso como meio aquoso para os sensores a testar. O TCS que não foi usado para produção das soluções, foi também armazenado num sítio escuro e fresco, para evitar que o calor ou a luz provoquem a sua degradação (fotólise). A água ultrapura utilizada foi fornecida por um sistema Milli-Q da Millipore, com uma resistividade de 18.2 MΩ.cm a 25 °C. A água da torneira utilizada foi retirada primeiramente para um recipiente a partir do qual foram feitas todas as soluções e depois armazenada.

### 3.4 Caracterização elétrica por espectroscopia de impedância

O método de medição e análise escolhido para este trabalho foi a técnica de espectroscopia de impedância. Através desta técnica foi possível medir e obter os espectros característicos do sinal em função da frequência. O analisador de impedância usado foi o *Solartron SI 1260* com auxílio da interface dielétrica *Solartron 1296*, e do módulo de referência dielétrica *Solartron 12961*. O *Solartron 1296* está por sua vez ligado à amostra e ao aparelho de referência (Hi & Lo 10 F). A montagem experimental pode ser observada na figura 3.8.



a)



b)

**Figura 3.8 Montagem experimental do circuito usado: a) fotografia da montagem no laboratório, e b) esquema da montagem experimental.**



Cada vez que um sensor foi analisado, este foi introduzido numa sonda. A sonda com o sensor na ponta é introduzida numa proveta com uma quantidade de solução suficiente para apenas o sensor estar submerso. A parte do sensor que é colocada em contacto com a solução aquosa para ser medida a impedância é a parte com maior metalização, ou seja, a parte dos “dedos”, como pode ser observado na figura 3.8 b). Para tentar manter a proveta, a sonda e o sensor sempre na vertical, e evitar o contacto da solução aquosa com a parte elétrica da sonda, utilizou-se um suporte com uma garra. Para garantir a temperatura constante de 25°C em todas as medições, utilizou-se um termóstato *Digit-cool* da marca *Selecta*, onde a parte da proveta contendo o sensor foi imersa num banho térmico, e aguardou-se sempre um período mínimo de 5 minutos dentro do banho antes de se começarem as medições para cada amostra. Os cabos que ligavam a sonda à interface dielétrica foram todos isolados com alumínio para reduzir ao máximo a existência de ruídos sobreposto com o sinal a analisar.

Ao ligar o sensor aos terminais do analisador de impedância no modo automático, este devolve a função PAR (paralela), o que resulta do facto deste tipo de sensores interdigitados em solução representar um circuito RC (resistência-condensador) e comprova experimentalmente o que foi estudado na teoria no Capítulo 2. O *software* utilizado foi o SMART V.3.3.1, e as medições foram efetuadas em AC no intervalo de frequências entre 32 MHz a 0,1 Hz.



## Capítulo 4 – Resultados

# 4

Este capítulo é dedicado à apresentação e discussão dos resultados experimentais obtidos. Numa primeira fase, analisou-se o comportamento elétrico de um sensor interdigitado simples, sem revestimento sensorial, para verificação da sua funcionalidade e grau de eficiência na detecção de TCS. Seguidamente, procedeu-se à preparação, medição e análise do comportamento elétrico de cinco pares de sensores interdigitados com diferentes revestimentos sensoriais, nomeadamente PAH+GO; PAH+DNA; PAH+DNA+GNPs; PEI+GO; PEI+DNA. Todos os sensores foram testados em água ultrapura, água da torneira e em dez soluções aquosas com diferentes concentrações de TCS (no intervalo de  $10^{-4}M$  a  $10^{-13}M$ ), tendo-se seguido o mesmo procedimento para todas as soluções aquosas em meio simples e complexo.

O comportamento elétrico dos sensores quando imersos em soluções de TCS foi analisado usando um analisador de impedância, que providenciou os espectros de impedância, ângulo de fase da impedância, capacitância e fator de dissipação em função da frequência. Estudou-se a capacitância e o fator de dissipação em função da concentração para quatro frequências fixas escolhidas. Estudou-se ainda a que frequências correspondem os pontos máximos e mínimos em função da concentração de TCS e recorreu-se ao método de PCA para verificar a sua evolução com a concentração de TCS presente.

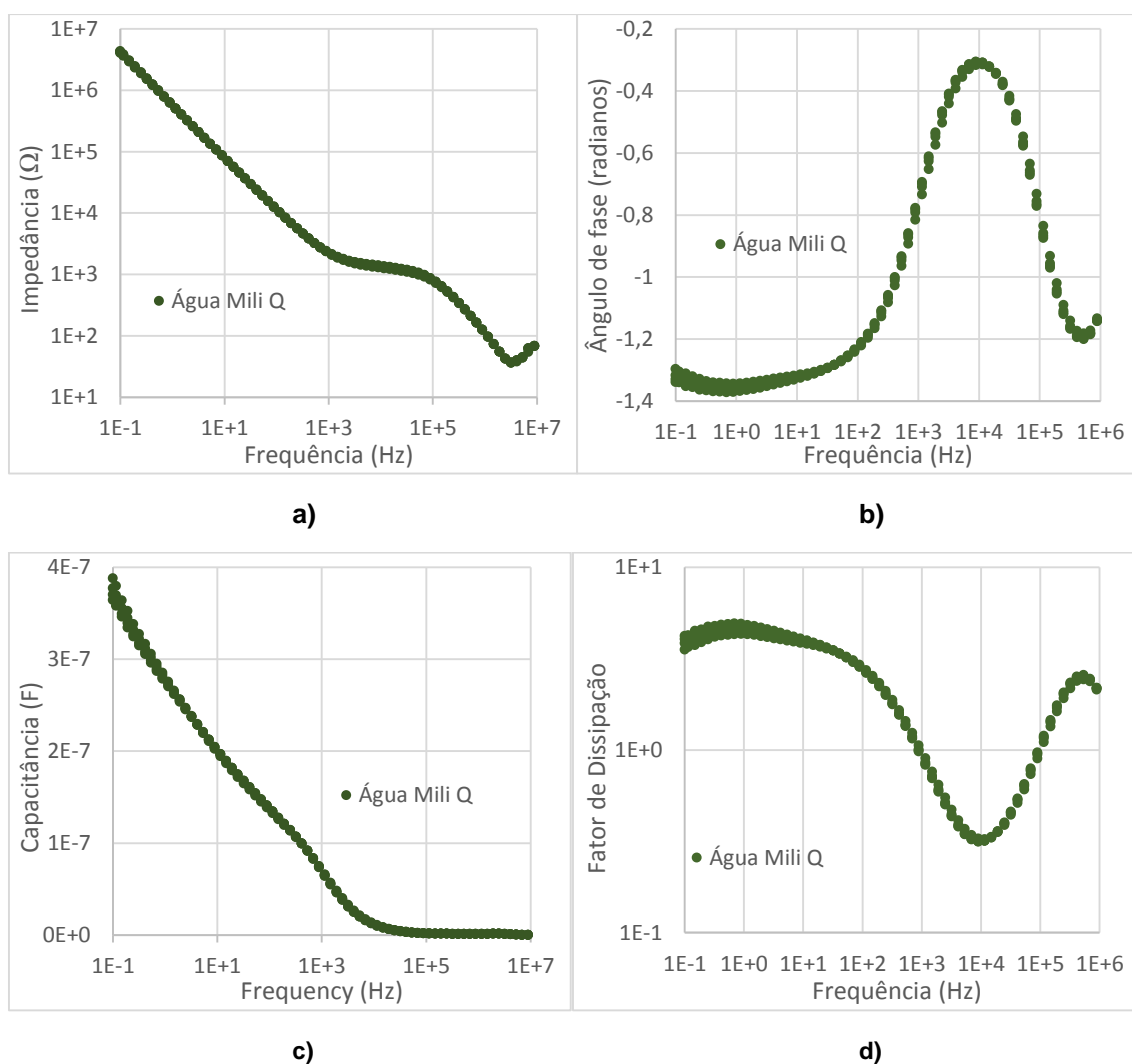
Todas as medições foram efetuadas à temperatura ambiente ( $25^{\circ}C$ ), utilizando-se um banho térmico para manter a temperatura constante. A água ultrapura e a água da torneira utilizadas como meios aquosos para as medições foram retiradas do equipamento *Milipore* e da torneira, respetivamente, imediatamente antes de serem utilizadas. Todas as medições foram efetuadas no intervalo de frequências entre 0,1 Hz a 32 MHz. Teve-se também o cuidado de blindar eletricamente todos os cabos e proveta onde se coloca a amostra de solução a analisar de forma a evitar ruído elétrico bem como outras interferências exteriores, como alterações de temperatura e luminosidade que poderia contribuir para a degradação do TCS. As medições foram efetuadas imergindo a zona ativa dos sensores sempre da solução com concentração mais baixa de TCS para a mais alta e os sensores lavados com água ultrapura entre medição, para reduzir a percentagem de contaminações no sensor nas medições seguintes. Mesmo que tenha ocorrido adsorção de alguma quantidade de TCS no sensor, não seria significativa para a medida seguinte. Cada um dos sensores foi medido individualmente para prevenir possíveis contaminações entre experiências.

### 4.1 Análise de soluções simples com elétrodos interdigitados sem revestimentos sensoriais

Com o intuito de se caracterizar os sensores quando não revestidos com filmes finos, foi seguida sempre a mesma metodologia para garantir a coerência das condições laboratoriais para todas as medições.

#### 4.1.1 Reprodutibilidade do sensor em água ultrapura

Preliminarmente, estudou-se o comportamento elétrico do sensor com os elétrodos interdigitados sem qualquer revestimento sensorial para analisar o desempenho do sensor em solução aquosa simples, i.e. água ultrapura. As medições foram efetuadas três vezes para verificação da existência de reprodutibilidade no comportamento elétrico do sensor em água ultrapura. Na figura 4.1 podem observar-se as diferentes características elétricas do sensor em função da frequência, com os resultados obtidos para as três medições efetuadas sobrepostos.

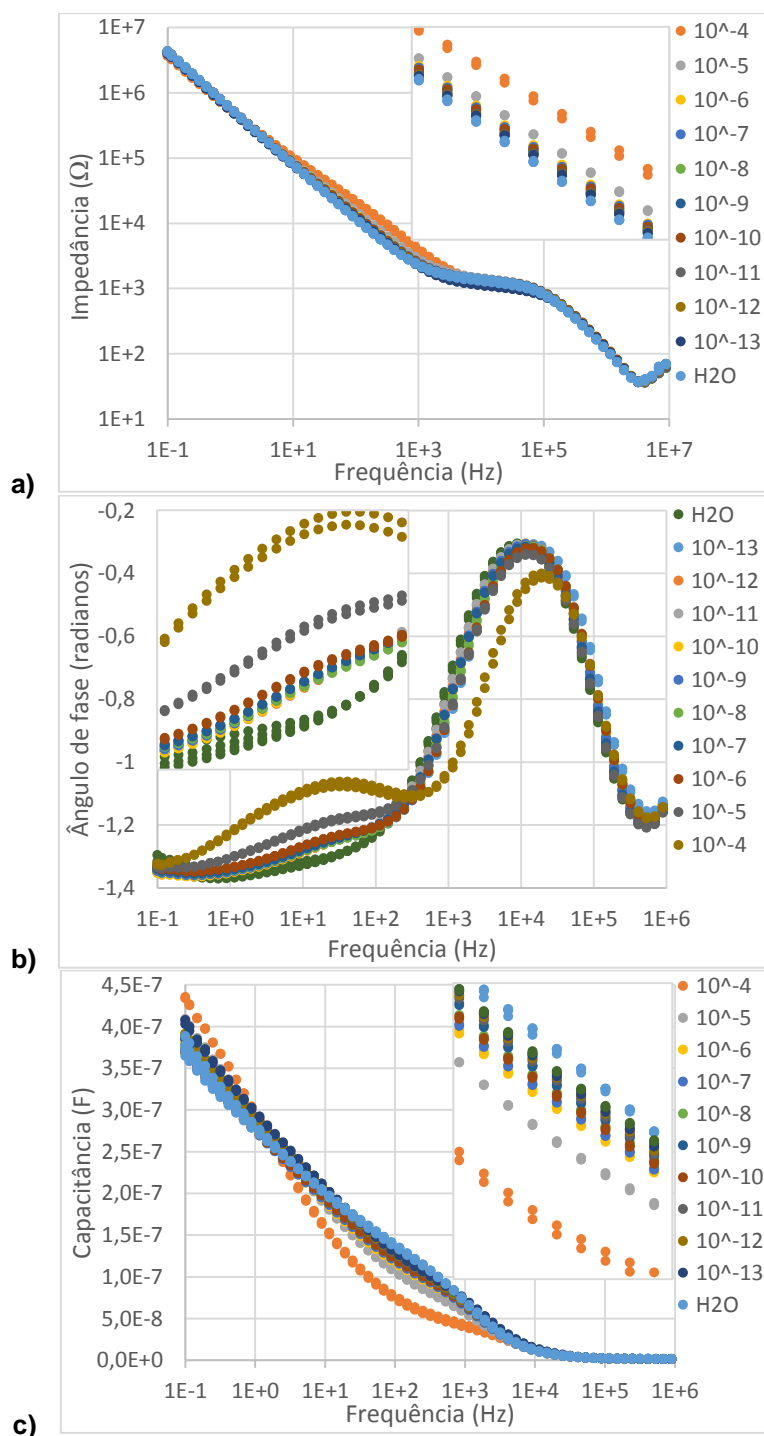


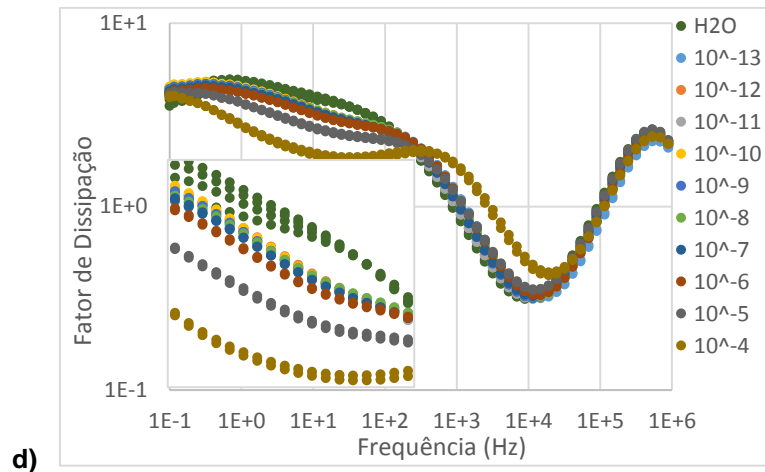
**Figura 4.1 - Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação, em função da frequência, obtidos para o sensor de elétrodos interdigitados sem revestimento, imerso em diferentes amostras de água ultrapura. Os resultados obtidos para as três medições encontram-se sobrepostos.**

Os resultados obtidos na figura 4.1 indicam que para frequências baixas, i.e., até cerca de 100Hz, existe uma pequena variação dos valores das variáveis medidas, o que pode comprometer a utilização dos resultados obtidos para estas frequências para a determinação de TCS presente.

#### 4.1.2 Análise de soluções aquosas de triclosan em água ultrapura

De seguida, foi estudado o comportamento elétrico do sensor de elétrodos interdigitados sem revestimento sensorial, em amostras de soluções aquosas de TCS com concentrações de  $10^{-13}M$  até  $10^{-4}M$ , em função da frequência, como pode ser observado na figura 4.2. Esta análise teve como objetivo estudar as características elétricas do sensor na presença de diferentes concentrações de TCS, antes se de adicionarem outras variáveis.

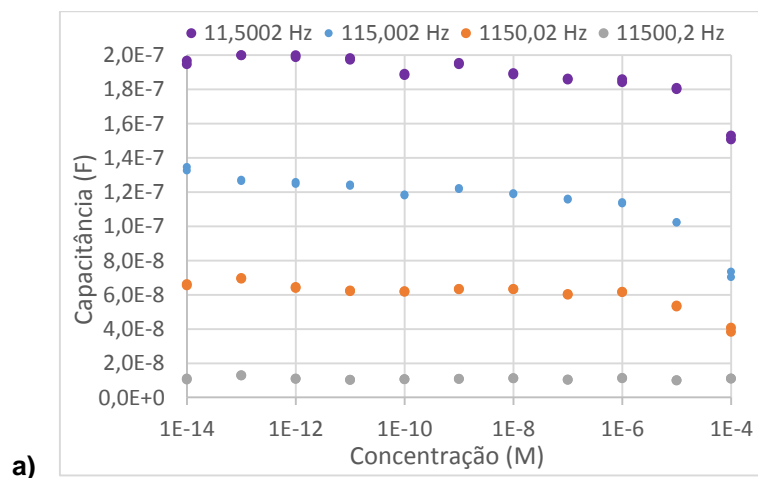


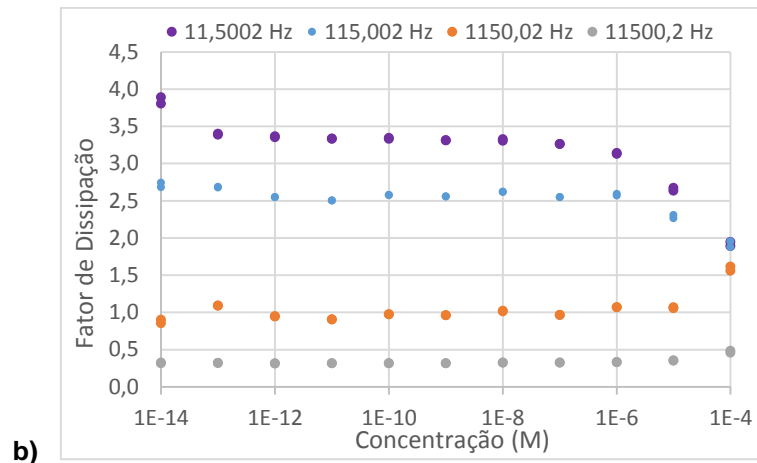


**Figura 4.2 - Espetros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor de eletrodos interdigitados sem revestimento, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espetros corresponderam ao intervalo de frequências entre 10 e 10<sup>2</sup> Hz.**

Numa primeira análise aos espetros de impedância, ângulo de fase, capacitância e fator de dissipação, apresentados na figura 4.2, verifica-se que é possível distinguir com facilidade as curvas correspondentes às concentrações de 10<sup>-4</sup> M, 10<sup>-5</sup> M, 10<sup>-6</sup> M de TCS assim como a curva correspondente à água ultrapura. Embora as concentrações no intervalo de 10<sup>-7</sup> M e de 10<sup>-13</sup> M apareçam como que por ordem, não é possível fazer uma distinção clara entre as mesmas.

Analisando o espectro de impedância, no intervalo de frequências entre 10 e 10<sup>3</sup> Hz, é possível observar que quanto maior a concentração de TCS presente maiores os valores de impedância. No espectro do ângulo de fase da impedância, é possível observar um comportamento semelhante no intervalo de frequências entre 1 e 10<sup>2</sup> Hz. Quanto maior a concentração de TCS presente, maiores são os valores de ângulo de fase da impedância. Nos espetros de capacitância e de fator de dissipação, no entanto, observa-se o comportamento oposto. No intervalo de frequências entre 10 e 10<sup>3</sup> Hz no caso da capacitância e entre 1 e 10<sup>2</sup> Hz no caso do fator de dissipação, é possível observar que quanto maior a concentração de TCS presente, menores são os valores de capacitância bem como os de fator de dissipação.

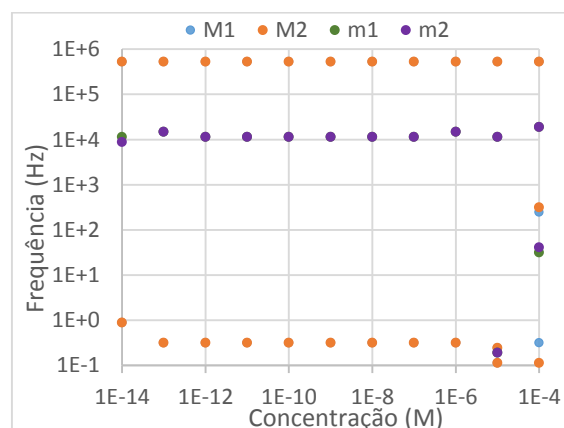




**Figura 4.3 - a) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências, em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor de elétrodos interdigitados sem revestimento, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS.**

Para se verificar a evolução geral da capacitância e do fator de dissipação em função da concentração de TCS, foram escolhidos quatro valores de frequências fixas. Estas frequências foram escolhidas com base no intervalo em que se obteve uma maior distinção entre cada curva de concentração de TCS, mas também onde as medições se demonstravam mais estáveis, nomeadamente entre  $10^3$  e  $10^4$  Hz. A evolução da capacitância e fator de dissipação a frequências fixas encontra-se representada nas figuras 4.3 a) e 4.3 b), respetivamente. Nestes verifica-se que os valores de capacitância e fator de dissipação mantêm-se aproximadamente constantes com a variação da concentração de TCS, à exceção das concentrações de  $10^{-5}$  e  $10^{-4}$  M, que são aquelas mais claramente distinguíveis.

Por outro lado, é também digno de nota que diferentes grandezas de frequência, provocam uma grande variação entre valores de capacitância e fator de dissipação. Para a mesma concentração e frequências mais baixas, observam-se valores de capacitância e de fator de dissipação mais elevados. Para a mesma concentração e frequências mais elevadas, observam-se valores de capacitância e de fator de dissipação mais baixos. Pode-se então concluir que embora o sensor apresente uma resposta elétrica semelhante, independentemente da frequência escolhida, os valores de capacitância e de fator de dissipação variam significativamente consoante a ordem de grandeza da frequência escolhida.

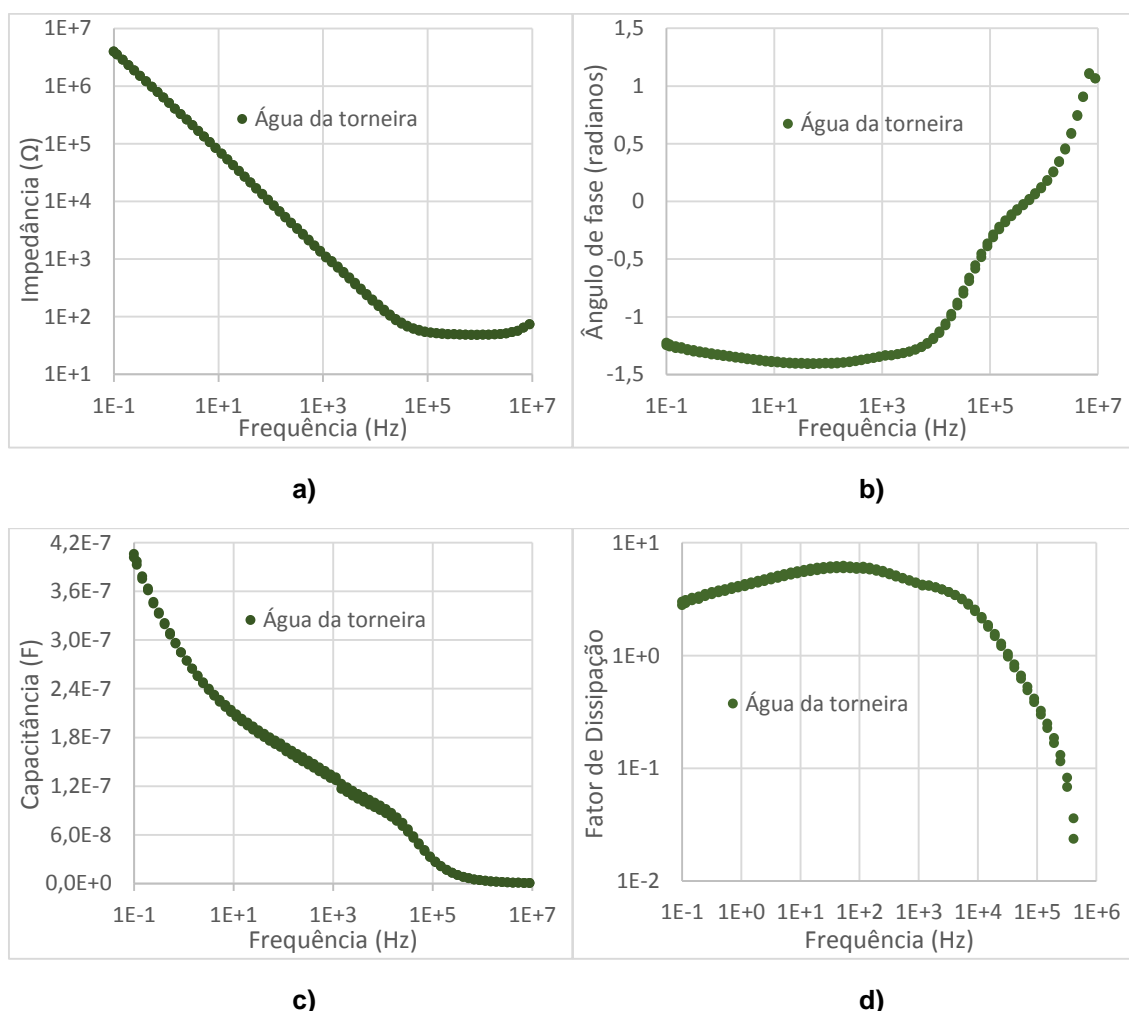


**Figura 4.4 - Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor de elétrodos interdigitados sem revestimento, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. Sabendo que cada sensor foi analisado duas vezes nas mesmas condições, M1 e M2 representam as medições correspondentes aos pontos máximos de fator de dissipação, m1 e m2 representam as medições correspondentes aos pontos mínimos.**

Por último, estudou-se a variação dos valores de frequência para cada concentração de TCS nos pontos máximos e mínimos das curvas do gráfico de fator de dissipação em função da frequência. Na figura 4.4, verifica-se que os valores máximos e mínimos de fator de dissipação para cada concentração de TCS, se situam aproximadamente nos mesmos intervalos de frequências. Máximos na frequência de 533792,2 Hz e mínimos no intervalo de 8904,19 Hz e 19183,5 Hz, não se conseguindo obter daí nenhuma informação que seja útil para a detecção de TCS.

#### 4.1.3 Análise de sensor em água da torneira

Estudou-se igualmente o comportamento elétrico do sensor sem qualquer revestimento sensorial em solução aquosa complexa, i.e. água da torneira. As medições foram efetuadas três vezes para verificação da existência de reprodutibilidade no comportamento elétrico do sensor em água da torneira. Na figura 4.5 podem observar-se as diferentes características elétricas do sensor em função da frequência, com os resultados obtidos para as três medições efetuadas sobrepostos.



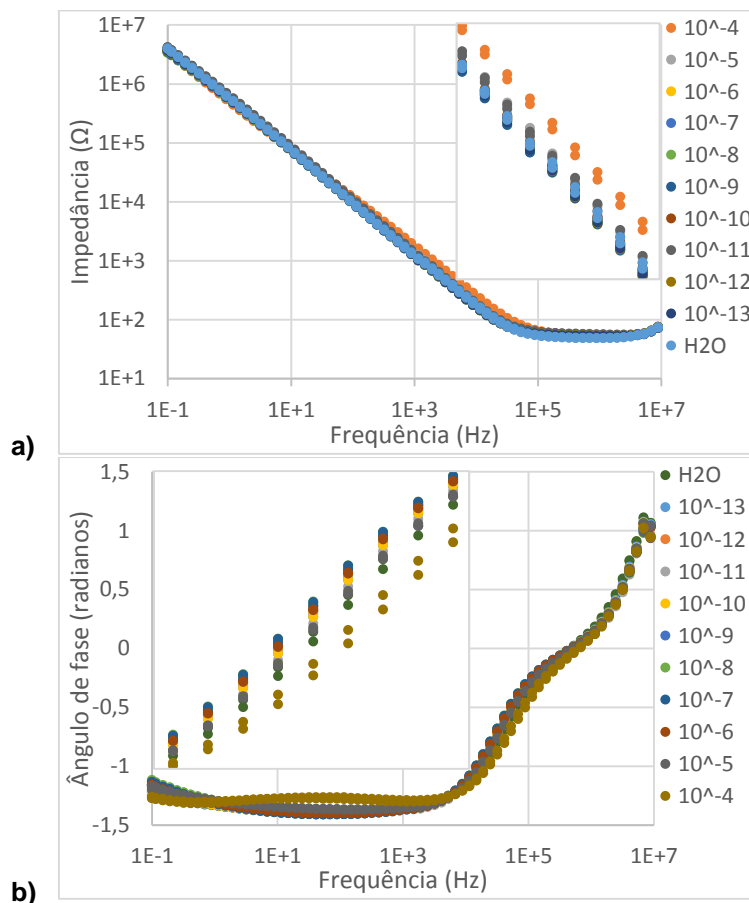
**Figura 4.5 - Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação, obtidos para o sensor de eletrodos interdigitados sem revestimento imerso em amostras de água da torneira. Os resultados obtidos para as três medições encontram-se sobrepostos.**

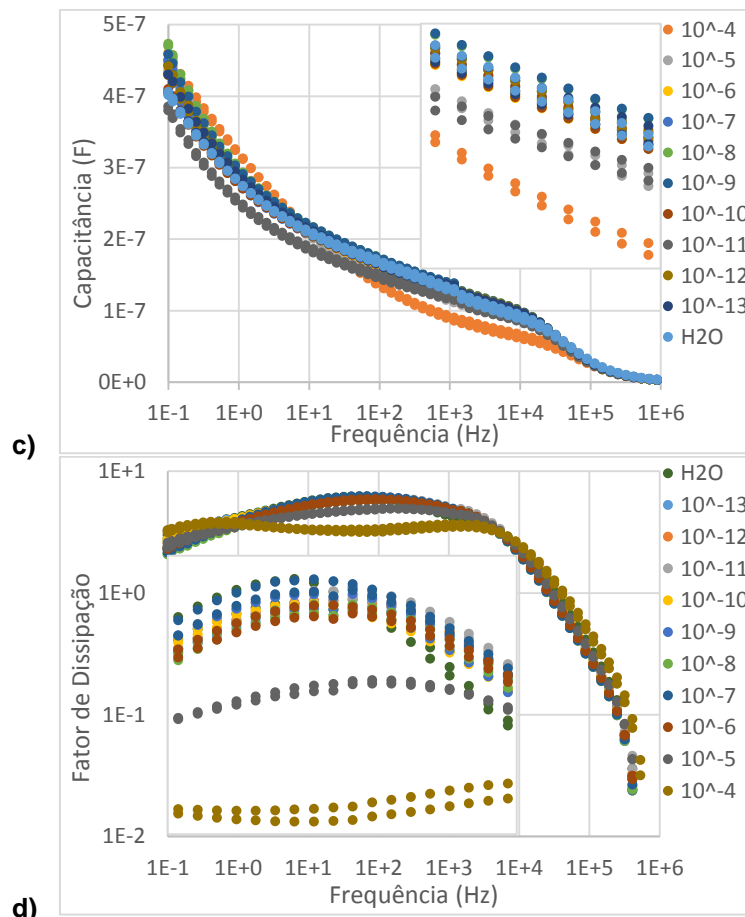


Comparando as curvas dos espectros de impedância, ângulo de fase, capacitância e fator de dissipação em água da torneira (meio aquoso complexo), na figura 4.5, com os analisados anteriormente em água ultrapura (meio aquoso simples), na figura 4.1, pode observar-se uma grande variação entre as mesmas, principalmente nas curvas dos espectros do ângulo de fase e do fator de dissipação em função da frequência. O aumento da sensibilidade do sensor deve-se ao aumento da condutividade da solução.

#### 4.1.4 Análise de soluções aquosas de triclosan em água da torneira

De seguida, procedeu-se à análise do comportamento elétrico do eletrodo interdigitado sem revestimento sensorial em água da torneira para dez soluções aquosas com diferentes concentrações de TCS, desde  $10^{-13}M$  até  $10^{-4}M$ . Na figura 4.6 pode observar-se as diferentes características elétricas do sensor em função da frequência, na presença de diferentes concentrações de TCS.

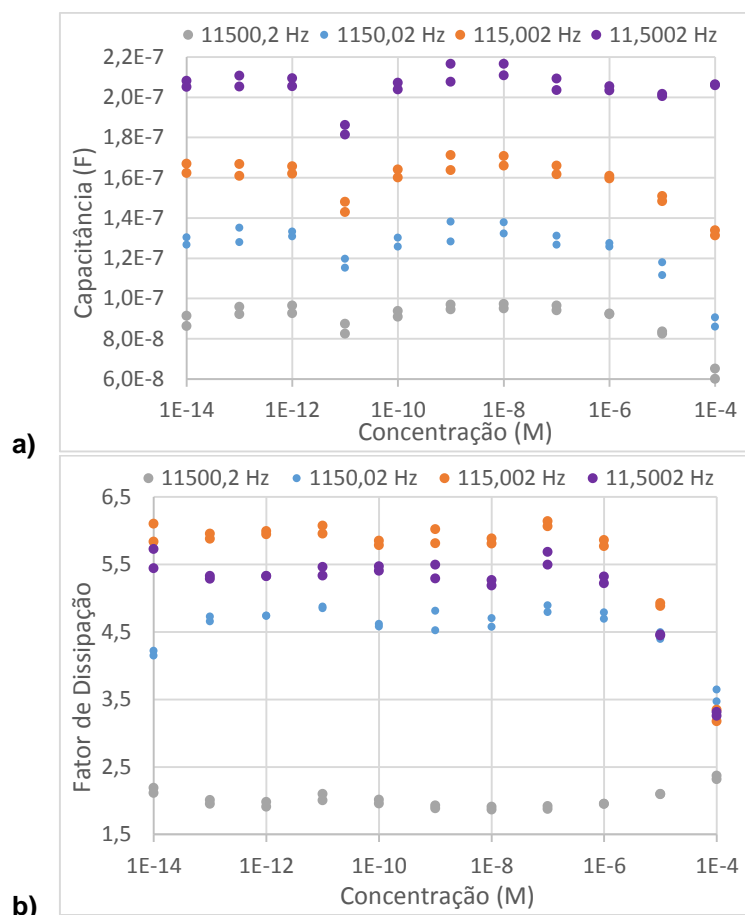




**Figura 4.6** Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação, em função da frequência, obtidos para o sensor de elétrodos interdigitados sem revestimento, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre  $10^2$  e  $10^4$  Hz.

Numa primeira análise aos espectros de impedância, ângulo de fase, capacitância e fator de dissipação, apresentados na figura 4.6, apenas é possível distinguir as curvas correspondentes às concentrações de  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  M de TCS. Por outras palavras, sem qualquer tratamento do sensor, não é possível detetar sequer a presença de diferentes concentrações de TCS em água da torneira, a menos que já se encontre uma quantidade significativa de TCS presente, nomeadamente, superior a  $10^{-5}$  M. Espera-se que com a utilização de revestimentos sensoriais se possa melhorar significativamente estes resultados.

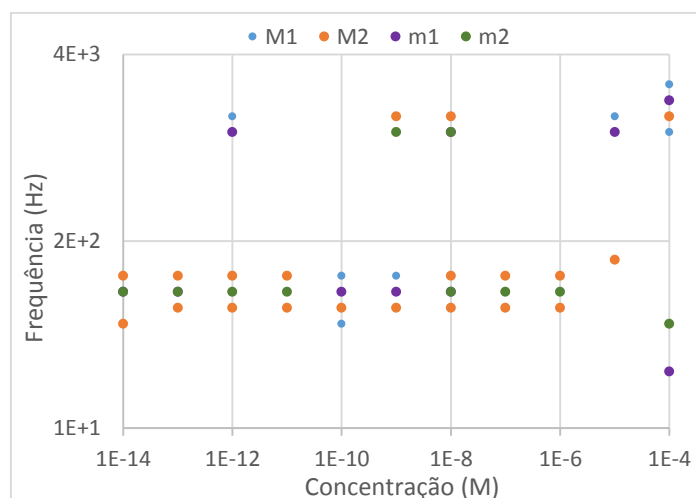
Examinando individualmente o espectro de impedância, no intervalo de frequências entre  $10^2$  e  $10^4$  Hz, é possível observar que quanto maior a concentração de TCS presente, maiores são os seus valores de impedância. No espectro do ângulo de fase da impedância, no mesmo intervalo de frequências, observa-se o mesmo comportamento. Quanto maior a concentração de TCS presente, maiores são os valores do ângulo de fase da impedância. No espectro de capacitância e no espectro de fator de dissipação, no intervalo de frequências entre  $10^2$  e  $10^3$  Hz, é possível distinguir as curvas correspondentes às concentrações de TCS de  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  M, verificando-se a diminuição dos valores de capacitância e de fator de dissipação com o aumento da concentração.



**Figura 4.7 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências, em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor de elétrodos interdigitados sem revestimento, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS.**

Analisando o comportamento elétrico do sensor para quatro valores de frequência fixa escolhidos, entre  $10^4$  Hz, na figura 4.7, verifica-se que este é semelhante independentemente da frequência escolhida, tanto no espectro da capacitância como no espectro do fator de dissipação em função da concentração de TCS presente. Mais uma vez, para as concentrações mais elevadas de TCS, de  $10^{-5}$  e  $10^{-4}$  M, observa-se um decréscimo nos valores de capacitância e de fator de dissipação.

Por outro lado, mais uma vez verifica-se que grandezas diferentes de frequência dão origem a uma variação entre valores de capacitância e fator de dissipação. Para a mesma concentração e frequências mais baixas, observam-se valores de capacitância e de fator de dissipação mais elevados. Para a mesma concentração e frequências mais elevadas, observam-se valores de capacitância e de fator de dissipação mais baixos. Só após a introdução de revestimentos sensoriais no sensor a partir da deposição de filmes finos, poderemos saber se este comportamento se mantém.



**Figura 4.8** Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor de elétrodos interdigitados sem revestimento, imerso em diversas amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos.

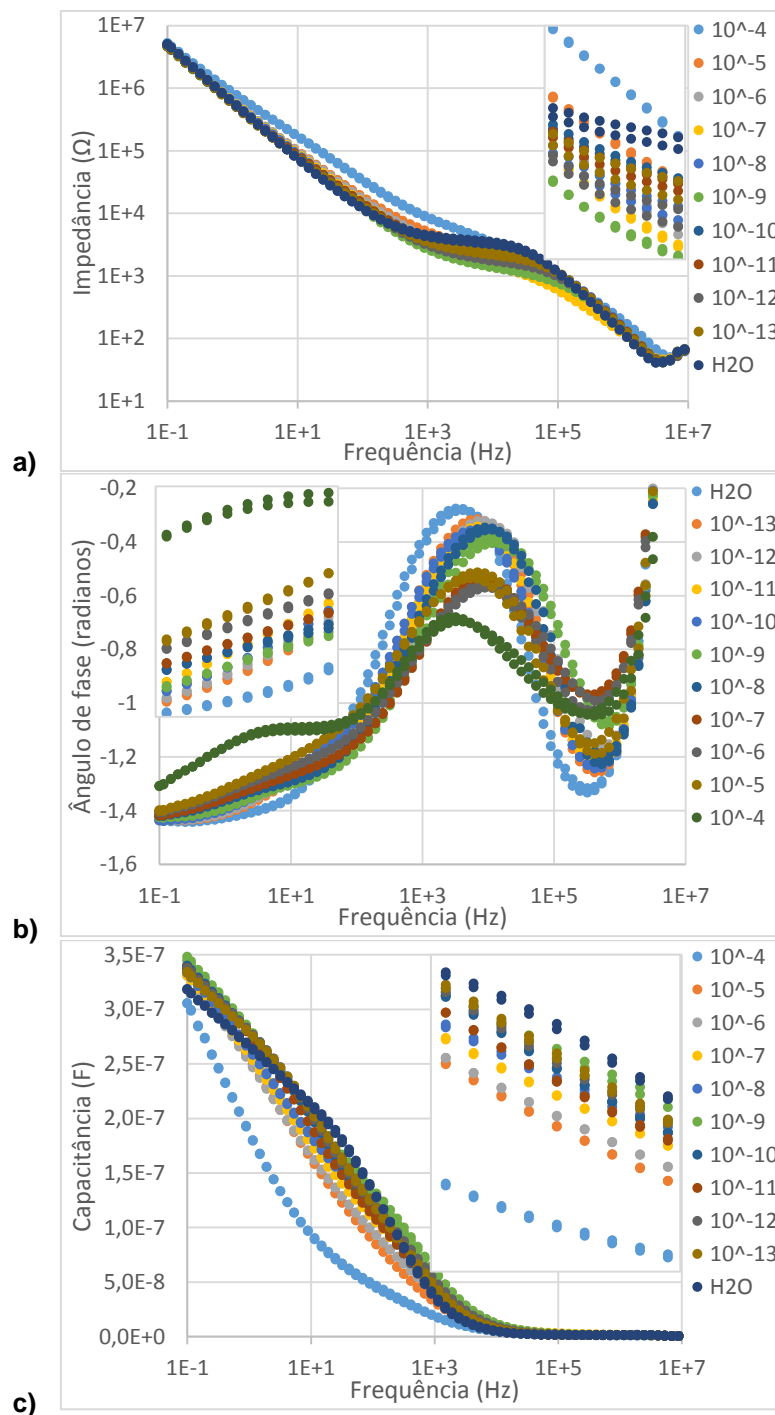
Por último, estudou-se a variação dos valores de frequência para cada concentração de TCS nos pontos máximos e mínimos das curvas do gráfico de fator de dissipação em função da frequência. Na figura 4.8 é possível verifica que os valores máximos e mínimos de fator de dissipação para cada concentração de TCS, se situam aproximadamente nos mesmos intervalos de frequências. Máximos nas frequências de 53.37922Hz, 68. 94191 Hz, 115.002 Hz e 1485.308 Hz, e mínimos nas frequências de 89.0419 Hz e 1150.02 Hz. Foram encontrados dois máximos e dois mínimos extra, apenas para a concentração de  $10^{-4} M$ , que como já tinha sido verificado anteriormente, poderá apresentar um maior número de máximos e mínimos, mas menos acentuados. Os máximos encontram-se nas frequências de 1150.02 Hz e 2477.644 Hz e mínimos nas frequências de 24.77644 Hz e 1918.349 Hz.

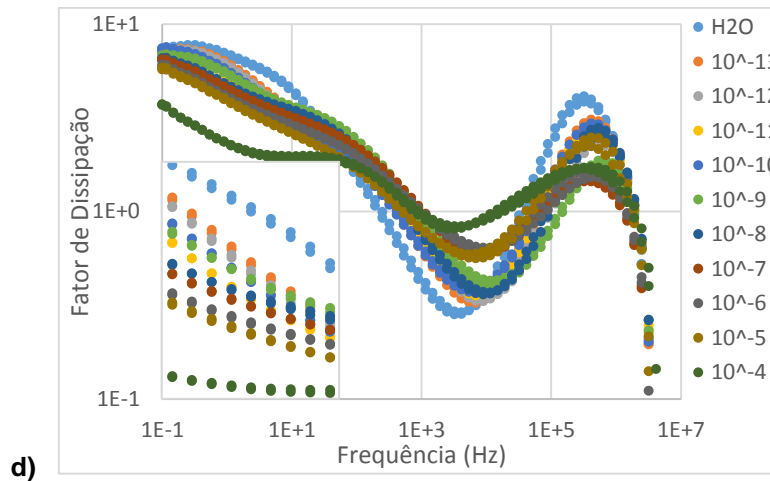
## 4.2 Análise de soluções simples com elétrodos interdigitados com revestimentos sensoriais em meio aquoso simples

Após a análise do comportamento elétrico do sensor sem revestimento sensorial em água ultrapura, procedeu-se à preparação e análise de sensores com diferentes revestimentos sensoriais em água ultrapura. O objetivo é verificar se é possível melhorar os resultados obtidos pelo sensor sem revestimento e aumentar a sua sensibilidade. A experiência foi realizada com cinco pares de sensores com diferentes revestimentos sensoriais para verificar a reprodutibilidade da experiência, em dez soluções aquosas de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. Para esta fase, foi seguida a mesma metodologia anterior, de modo a comparar os dados obtidos.

#### 4.2.1 Análise de sensor revestido com (PAH/GO)<sub>10</sub> em soluções aquosas de triclosan

Na figura 4.9 podem observar-se as diferentes características elétricas do sensor revestido com um filme fino com dez bicamadas de PAH e GO, (PAH/GO)<sub>10</sub> em função da frequência, na presença de diferentes concentrações de TCS em água ultrapura.



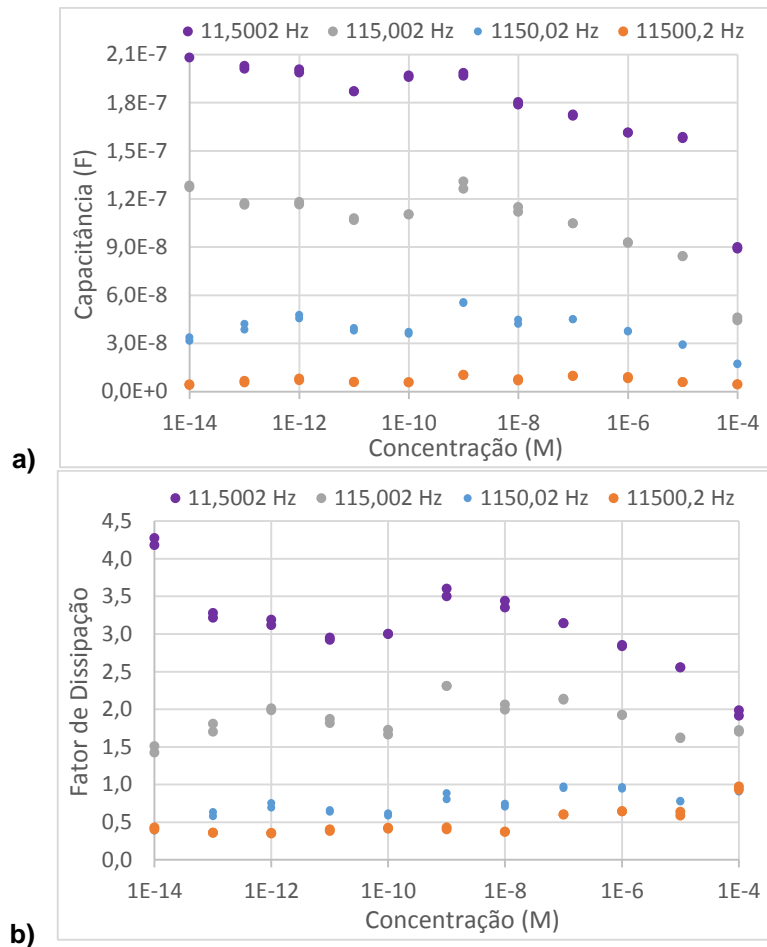


**Figura 4.9** Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PAH/GO)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre  $10^3$  e  $10^4$  Hz, no caso dos espectros de impedância, entre  $10^5$  e  $10^6$  e  $10^0$  e  $10^1$  Hz no caso dos espectros de ângulo de fase e fator de dissipação, e entre  $10^{-1}$  e  $10^0$  e  $10^2$  e  $10^3$  Hz no caso dos espectros de capacitância.

Nos gráficos da figura 4.9 estão representados os espectros de impedância, ângulo de fase, capacitância e fator de dissipação do sensor revestido com um filme fino de (PAH/GO)<sub>10</sub>. Analisando o espectro de impedância, no intervalo entre  $10^3$  e  $10^4$  Hz, é possível identificar as curvas correspondentes às concentrações de  $10^{-4}$  a  $10^{-9}$  M, verificando-se o aumento dos valores de impedância com o aumento da concentração. Nos espectros de ângulo de fase de impedância e do fator de dissipação, no intervalo de frequências entre  $10^{-1}$  e  $10^1$  Hz, é possível distinguir as curvas correspondentes a todas as concentrações testadas. Quanto maior a concentração de TCS presente, maiores os valores do ângulo de fase e menores os valores do fator de dissipação. No entanto, visto tratar-se de um intervalo de frequências associado a instabilidade nas medições, pode não ser um bom ponto de referência para futura reprodutibilidade do sensor. No espectro de capacitância, no intervalo entre  $10$  e  $10^2$  Hz, é possível fazer a distinção das curvas correspondentes às concentrações de  $10^{-4}$  a  $10^{-7}$  M, verificando-se a diminuição dos valores de capacitância com o aumento da concentração, e uma melhoria relativamente ao sensor sem revestimento sensorial.

Em suma, após análise dos espectros é possível fazer a detecção e distinção das diferentes concentrações de TCS presentes. É ainda possível verificar nos espectros de ângulo de fase e fator de dissipação que quanto maior a concentração de TCS presente na solução, maior é a quantidade de picos no espectro. Ou seja, concentrações menores apresentam picos (máximos e mínimos) mais acentuados, enquanto que concentrações maiores poderão apresentar um maior número de máximos e mínimos (apenas verificado para a concentração de  $10^{-4}$  M).

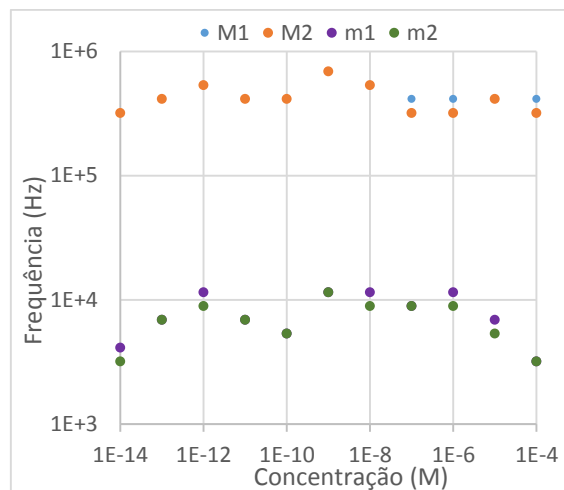
Fazendo uma análise geral dos espectros, verifica-se uma melhoria relativamente ao sensor sem revestimento sensorial, tendo-se verificado que o sensor com revestimento sensorial (PAH/GO)<sub>10</sub> é suficientemente sensível para a detecção e distinção das diferentes concentrações de TCS presentes, podendo ser usado como referência futura para reprodutibilidade de um método fiável para o objetivo proposto.



**Figura 4.10 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PAH/GO)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS.**

Analisando o comportamento elétrico do sensor para quatro valores de frequência fixa escolhidos, entre  $10^1$  e  $10^4$  Hz, na figura 4.10, verifica-se um ligeiro decréscimo dos valores de capacitância e fator de dissipação com o aumento da concentração de TCS presente, para as frequências mais baixas, como tinha sido verificado no sensor sem revestimento sensorial, mas nesse apenas para as concentrações de  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  M. Fazendo uma comparação entre os valores de capacitância e fator de dissipação em função da frequência para o sensor com revestimento (PAH/GO)<sub>10</sub> e para o sensor sem revestimento sensorial, o sensor com revestimento apresenta valores ligeiramente superiores, de modo que podemos associar valores maiores de capacitância e fator de dissipação medidos a um melhor desempenho do sensor.

Relativamente à ordem de grandeza das frequências, para a mesma concentração e frequências mais baixas, observam-se valores de capacitância e de fator de dissipação mais elevados. Para a mesma concentração e frequências mais elevadas, observam-se valores de capacitância e de fator de dissipação mais baixos. Neste ponto, não se verificam então alterações relativamente aos resultados obtidos para o sensor sem revestimento sensorial.

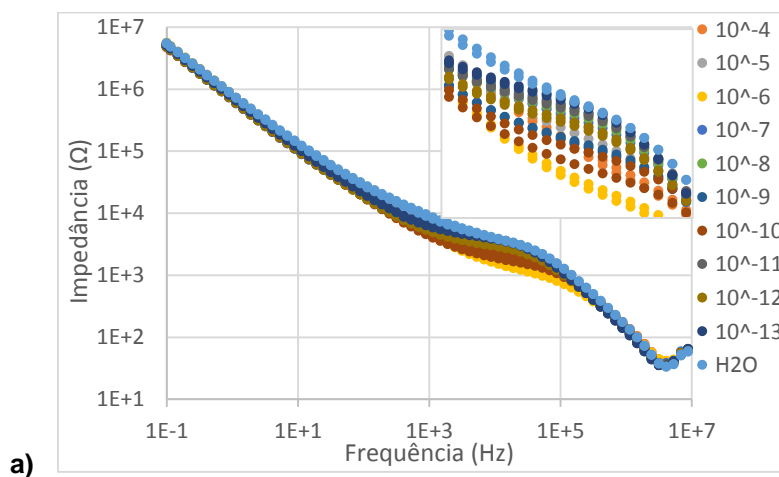


**Figura 4.11** Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PAH/GO)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos.

Finalmente, estudou-se a variação dos valores de frequência para cada concentração de TCS nos pontos máximos e mínimos das curvas do gráfico de fator de dissipação em função da frequência. Na figura 4.11, verifica-se que os valores máximos e mínimos de fator de dissipação para cada concentração de TCS, se situam aproximadamente nas mesmas grandezas de frequências. Máximos nas frequências de 320000 Hz, 413295.9 Hz, 533792.2 Hz e 689419,1 Hz, e mínimos nas frequências de 3200 Hz (para água ultrapura e  $10^{-4}M$ ), 4132.959 Hz, 5337.922 Hz, 6894.191 Hz, 8904,19 Hz e 11500,2 Hz. As frequências nos pontos máximos e mínimos são semelhantes às obtidas para o sensor sem revestimento sensorial.

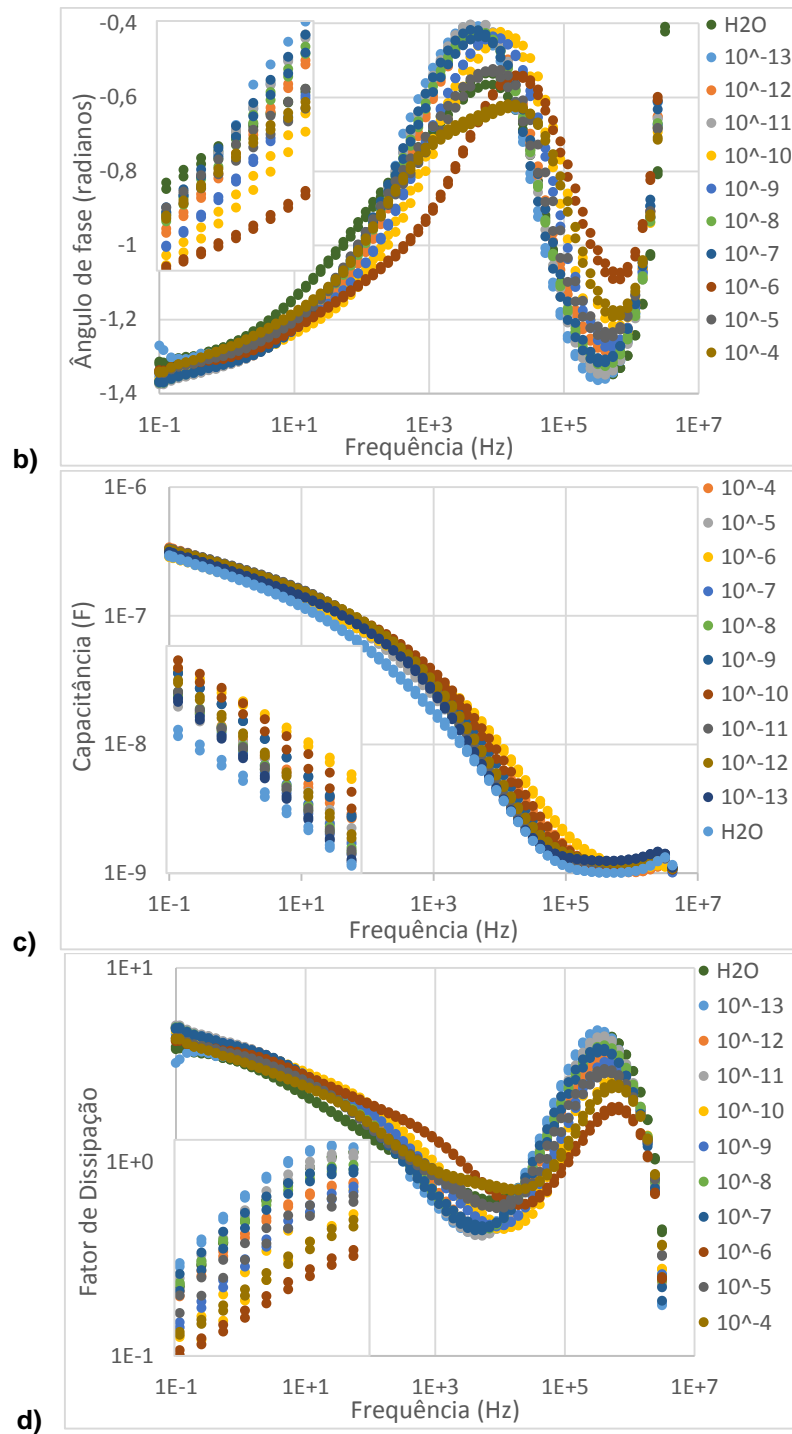
#### 4.2.2 Análise de sensor revestido com (PAH/DNA)<sub>10</sub> em soluções aquosas de triclosan

Na figura 4.12 podem observar-se as diferentes características elétricas do sensor revestido com um filme fino com dez bicamadas de PAH e DNA, (PAH/DNA)<sub>10</sub>, em função da frequência, na presença de diferentes concentrações de TCS em água ultrapura.



a)

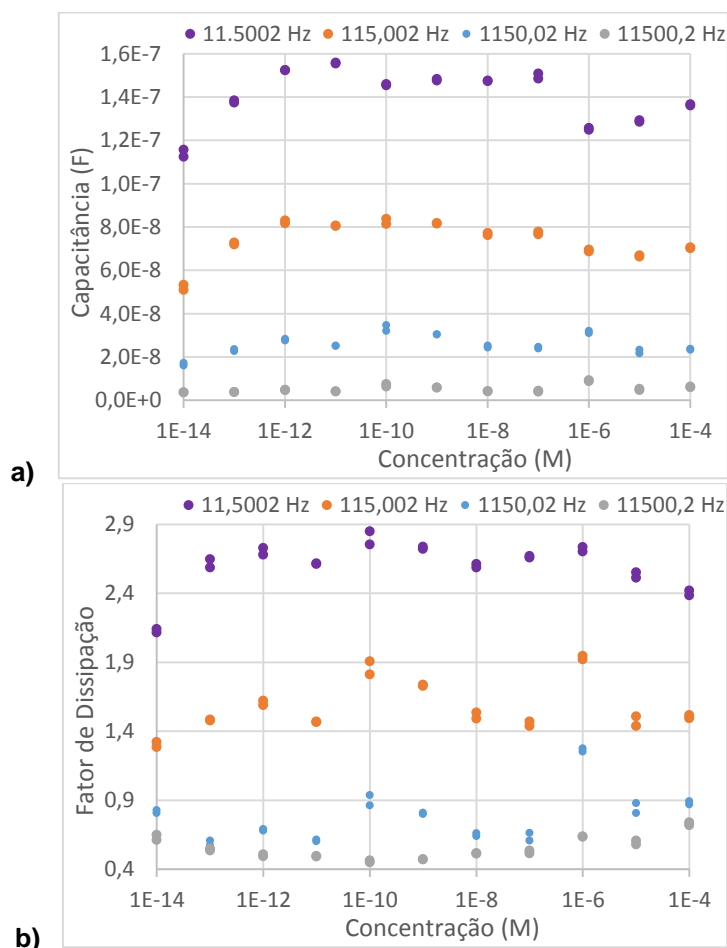




**Figura 4.12** Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre 10<sup>3</sup> e 10<sup>5</sup> Hz, no caso dos espectros de impedância e capacitância, entre 10<sup>2</sup> e 10<sup>3</sup> no caso dos espectros de ângulo de fase, e entre 10<sup>5</sup> e 10<sup>6</sup> no caso dos espectros de fator de dissipação.

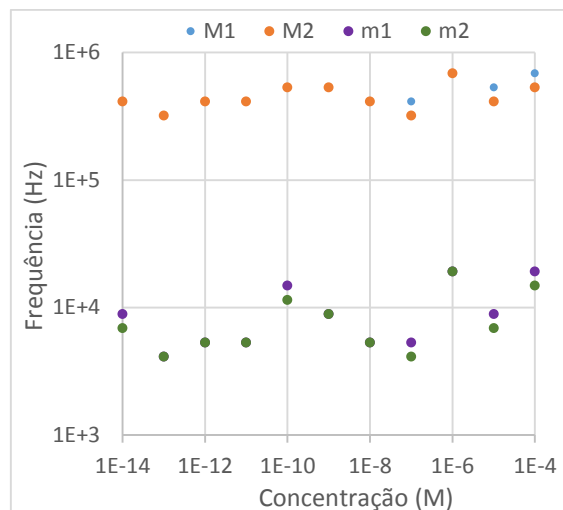
Nos gráficos da figura 4.12 estão representados os espectros de impedância, ângulo de fase, capacitância e fator de dissipação do sensor revestido com um filme fino de (PAH/DNA)<sub>10</sub>. Dos espectros de impedância e capacitância não é possível tirar qualquer conclusão, apenas parece ser parcialmente distinguível a curva correspondente à água ultrapura no intervalo de frequências entre 10<sup>2</sup> e 10<sup>4</sup> Hz. Nos espectros de ângulo de fase e fator de dissipação, é possível distinguir as

curvas correspondentes a cada uma das concentrações de TCS presentes, no entanto, é inconclusivo, uma vez que não se consegue estabelecer um padrão que nos permita quantificar o TCS presente na solução. Nestes espectros parece ainda haver uma variação significativa do espectro consoante a concentração de TCS presente, no entanto, este sensor não deverá ser usado como referência futura para reprodutibilidade de um método fiável para deteção e quantificação de concentrações de TCS em solução aquosa.



**Figura 4.13 a) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências, em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS.**

Analisando o comportamento elétrico do sensor para quatro valores de frequência fixa escolhidos, entre  $10^1$  e  $10^4$  Hz, na figura 4.13, verifica-se uma ligeira variação entre valores máximos e mínimos de capacitância e fator de dissipação, embora oscilando à volta do mesmo valor, consoante a concentração de TCS presente, no entanto, não é possível retirar qualquer conclusão. Comparando os valores de capacitância e fator de dissipação em função da frequência para o sensor com revestimento (PAH/DNA)<sub>10</sub> e o sensor sem revestimento, este sensor apresenta valores mais baixos e no geral apresentou um desempenho pior do que o sensor sem revestimento, estando de acordo com a conclusão anterior que valores de capacitância e fator de dissipação mais elevados em função da frequência estão relacionados com um melhor desempenho do sensor.

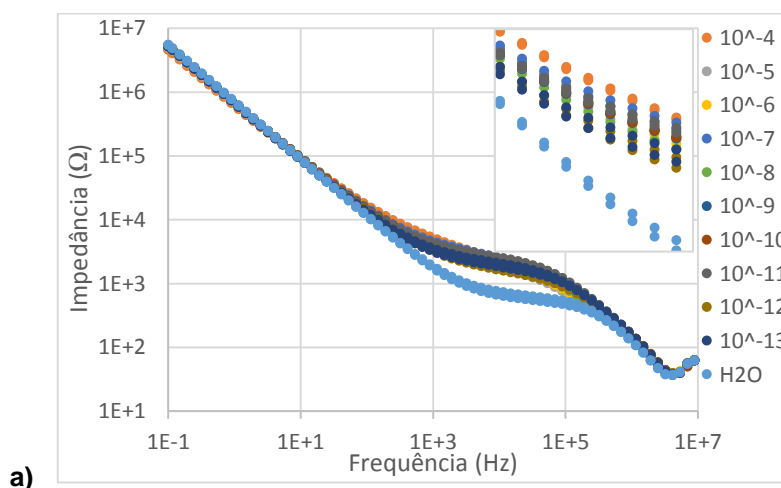


**Figura 4.14** Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PAH/DNA)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos.

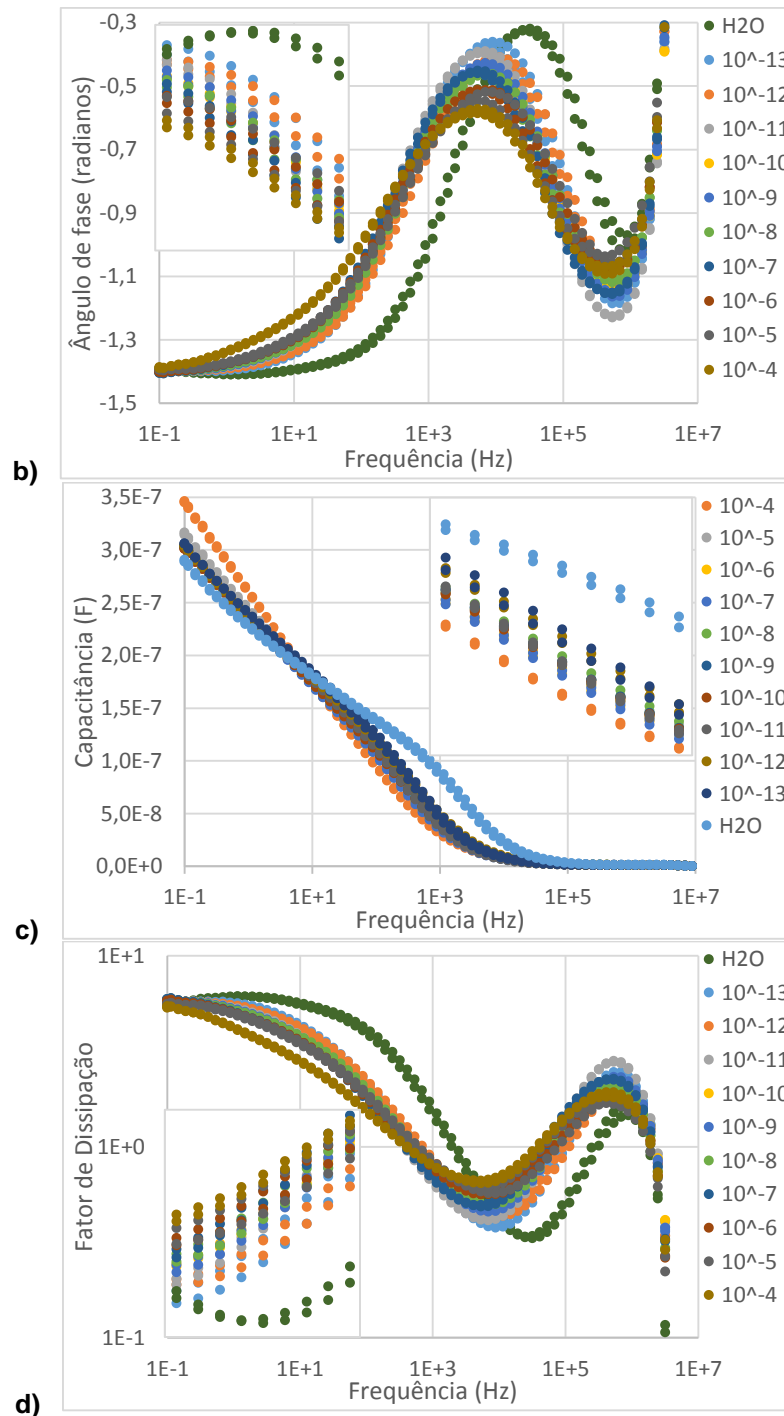
Finalmente, estudou-se a variação dos valores de frequência para cada concentração de TCS nos pontos máximos e mínimos das curvas do gráfico de fator de dissipação em função da frequência. Na figura 4.14, verifica-se que os valores máximos e mínimos de fator de dissipação para cada concentração de TCS, se situam aproximadamente nas mesmas grandezas de frequências e são semelhantes às obtidas para o sensor sem revestimento sensorial. Máximos nas frequências de 320000 Hz, 413295,9 Hz, 533792,2 Hz e 689419,1 Hz, e mínimos no intervalo de frequências entre 4132,959 Hz e 19183,5 Hz.

#### 4.2.3 Análise de sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub> em soluções aquosas de triclosan

Na figura 4.15 podem observar-se as diferentes características elétricas do sensor revestido com um filme fino com dez bicamadas de PAH e DNA+GNPs, (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub>, em função da frequência, na presença de diferentes concentrações de TCS em água ultrapura.



a)

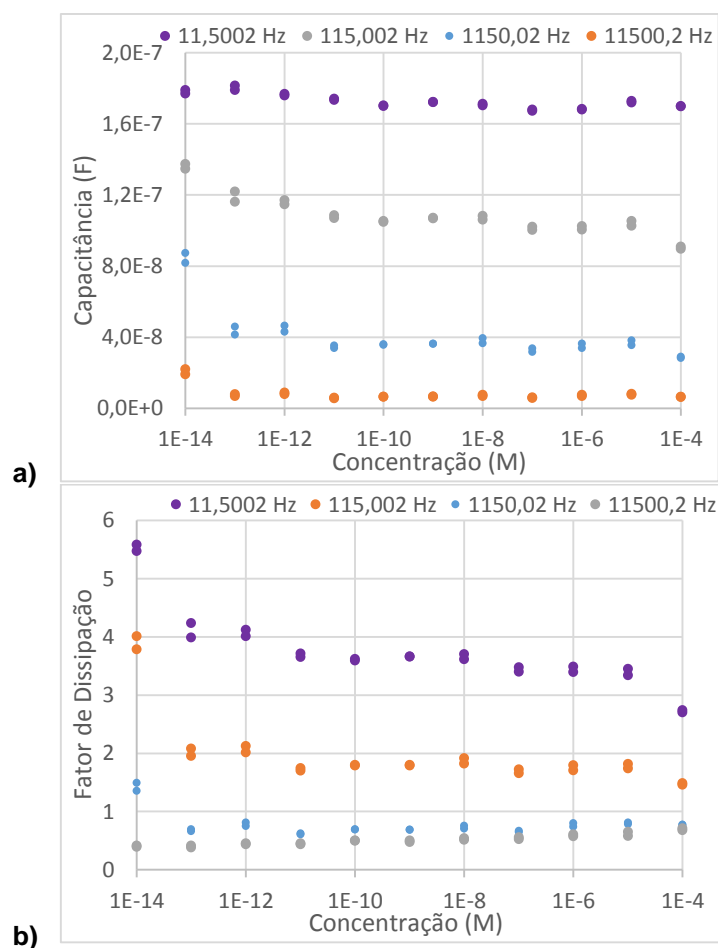


**Figura 4.15** Espetros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre 10<sup>2</sup> e 10<sup>4</sup> Hz.

Nos gráficos da figura 4.15 estão representados os espectros de impedância, ângulo de fase, capacitância e fator de dissipação do sensor revestido com um filme fino de (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub>. Não é possível tirar conclusões dos espectros de impedância e de capacitância uma vez que apenas se consegue distinguir parcialmente as curvas correspondentes às concentrações de água ultrapura, 10<sup>-13</sup> M e 10<sup>-4</sup> M no intervalo de frequências entre 10<sup>2</sup> e 10<sup>3</sup> Hz. Estes espectros podem ser usados para detecção da presença de TCS, mas não para a sua quantificação. Nos espectros do ângulo de fase e do fator de dissipação, por outro lado, é possível distinguir as curvas

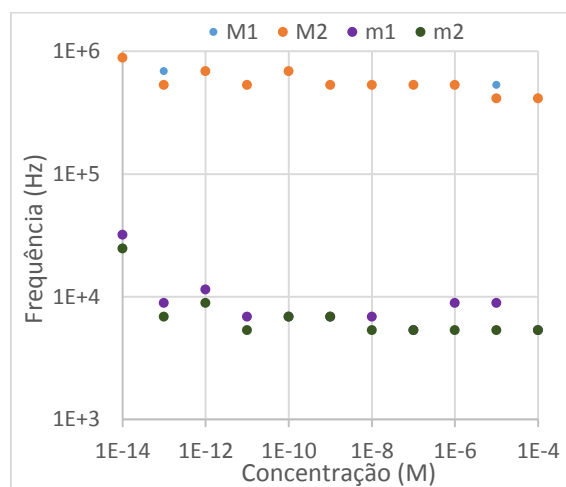
correspondentes a cada uma das concentrações de TCS presentes, no intervalo de frequências entre  $10^3$  e  $10^5$  Hz, permitindo detectar e quantificar a concentração de TCS presente na solução. Neste intervalo é possível verificar que quanto maior a concentração de TCS presente na solução, menores os valores do ângulo de fase e maiores os valores do fator de dissipação medidos. Adicionalmente, ao contrário do que seria de esperar, a quantidade de picos parece manter-se constante com a concentração de TCS, não se observando menor quantidade de máximos e mínimos e mais acentuados para concentrações menores, ou maior número de máximos e mínimos e menos acentuados para concentrações maiores.

Fazendo uma análise geral dos espectros, verifica-se uma melhoria relativamente ao sensor sem revestimento sensorial, tendo-se verificado que o sensor com revestimento sensorial (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub> é um bom sensor para a deteção e distinção das diferentes concentrações de TCS presentes, podendo ser usado como referência futura para reprodutibilidade de um método fiável para o objetivo proposto. É também de notar o progresso que foi feito relativamente ao sensor com revestimento sensorial (PAH/DNA)<sub>10</sub> por apenas se fazer a adição de nanopartículas de ouro à camada aniônica.



**Figura 4.16 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS.**

Analisando o comportamento elétrico do sensor para quatro valores de frequência fixa escolhidos, entre  $10$  e  $10^4$  Hz, na figura 4.16, verificam-se valores de capacitância aproximadamente constantes e um decréscimo dos valores de fator de dissipação com o aumento da concentração de TCS presente. Comparando os valores de capacitância e fator de dissipação em função da frequência do sensor revestido com  $(\text{PAH}/\text{DNA}+\text{GNPs})_{10}$  e do sensor sem revestimento, o sensor com revestimento apresenta valores de capacitância semelhantes, mas de fator de dissipação superiores, podendo-se associar o aumento destes valores a um melhor desempenho do sensor, algo já verificado para o sensor com revestimento sensorial  $(\text{PAH}/\text{GO})_{10}$ . É também possível observar que para a mesma concentração e frequências mais baixas, observam-se valores de capacitância e de fator de dissipação mais elevados, e o inverso para frequências mais elevadas. Neste ponto, não se verificam alterações relativamente aos resultados obtidos para o sensor sem revestimento sensorial e é um comportamento que foi observado para todos os sensores quer em água ultrapura quer em água da torneira.

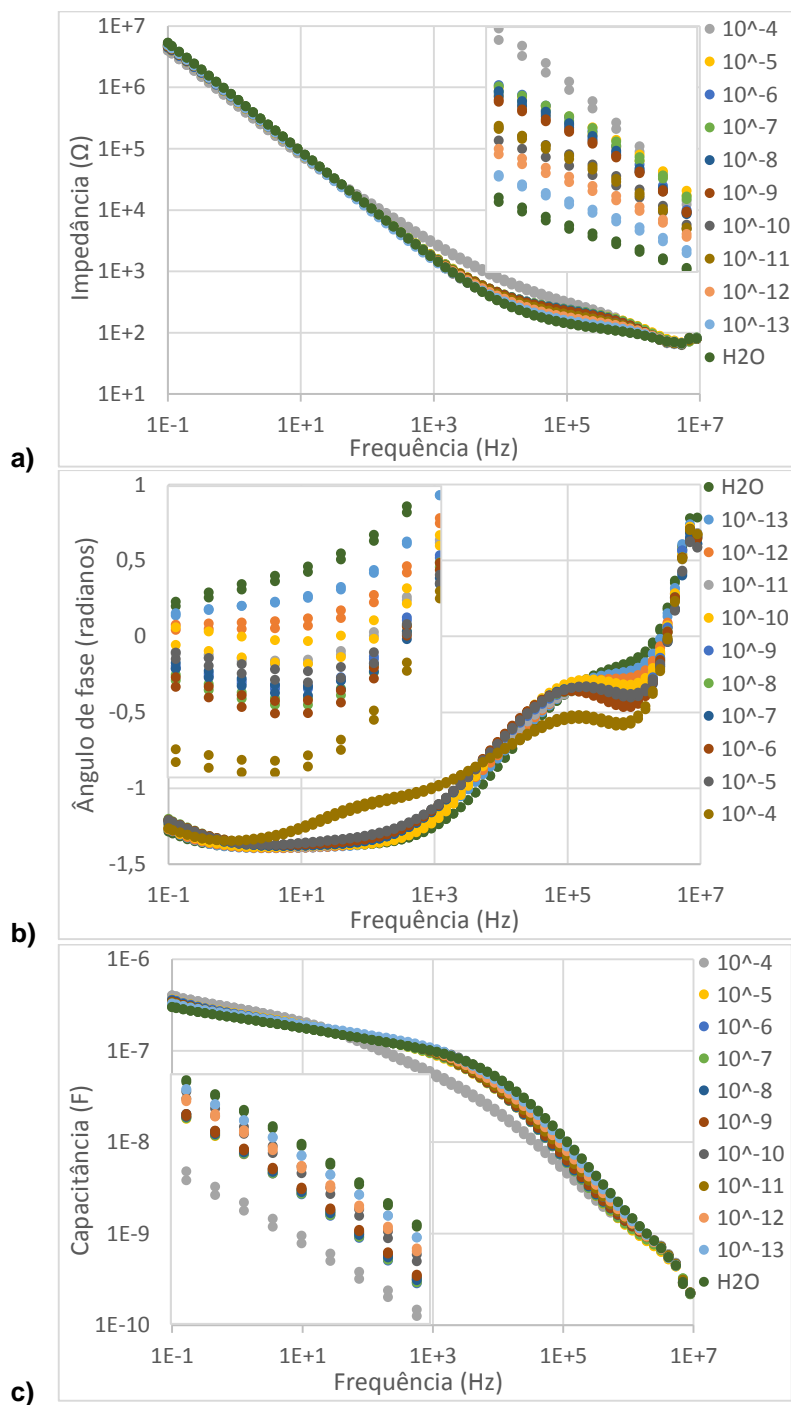


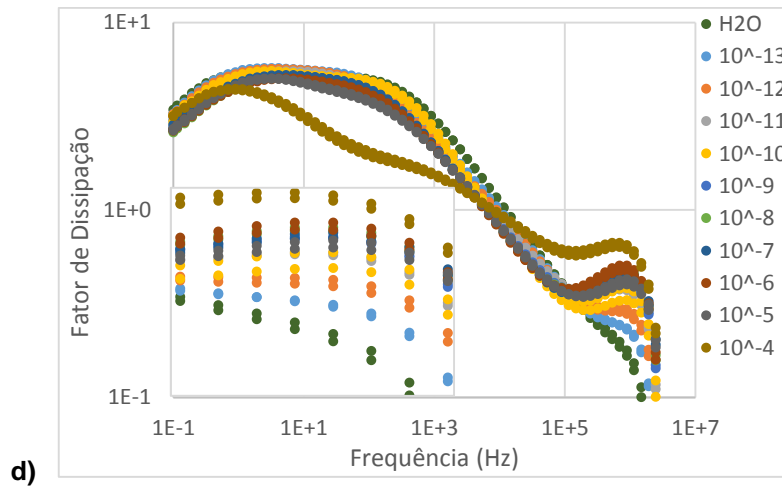
**Figura 4.17** Frequência dos máximos e dos mínimos do espetro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com  $(\text{PAH}/\text{DNA}+\text{GNPs})_{10}$ , imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos.

Finalmente, estudou-se a variação dos valores de frequência para cada concentração de TCS nos pontos máximos e mínimos das curvas do gráfico de fator de dissipação em função da frequência. Na figura 4.17, verifica-se que os valores máximos e mínimos de fator de dissipação para cada concentração de TCS, se situam aproximadamente nas mesmas grandezas de frequências. Máximos nas frequências de 413295.9 Hz, 533792.2 Hz, 689419.1 Hz e 890419 Hz (para água ultrapura), e mínimos nas frequências de 5337.922 Hz, 6894.191 Hz, 8904,19 Hz, 11500,2 Hz e 24776,44Hz/32000 Hz (para água ultrapura). As frequências nos pontos máximos e mínimos são semelhantes às obtidas para o sensor sem revestimento.

#### 4.2.4 Análise de sensor revestido com (PEI/DNA)<sub>10</sub> em soluções aquosas de triclosan

Na figura 4.18 podem observar-se as diferentes características elétricas do sensor revestido com um filme fino com dez bicamadas de PEI e DNA, (PEI/DNA)<sub>10</sub>, em função da frequência, na presença de diferentes concentrações de TCS em água ultrapura.

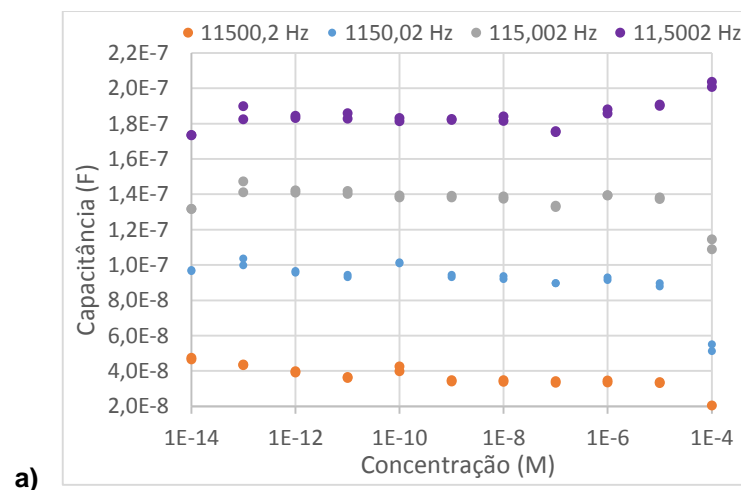




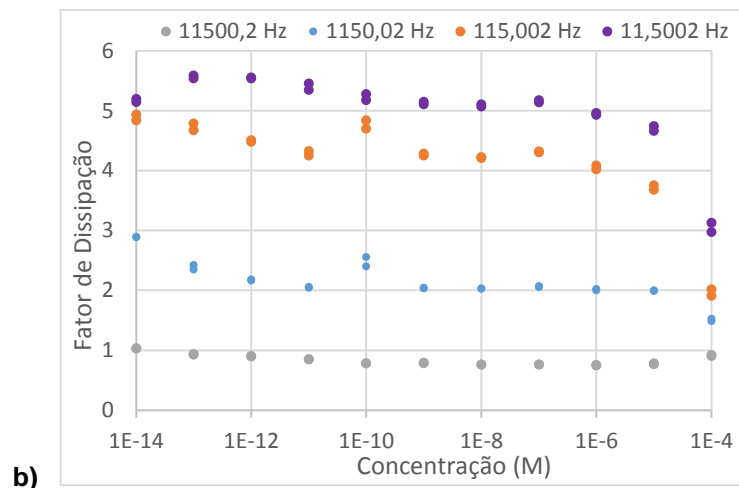
**Figura 4.18** Espetros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PEI/DNA)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espetros corresponderam ao intervalo de frequências entre 10<sup>4</sup> e 10<sup>6</sup> Hz.

Nos gráficos da figura 4.18 estão representados os espetros de impedância, ângulo de fase, capacitância e fator de dissipação do sensor revestido com um filme fino de (PEI/DNA)<sub>10</sub>. Fazendo uma análise do espectro de impedância, no intervalo de frequências entre 10<sup>4</sup> e 10<sup>6</sup> Hz, é possível distinguir as curvas correspondentes a cada uma das concentrações de TCS presentes. Quanto maior a concentração de TCS, maiores os valores de impedância medidos. Analisando o espectro de capacitância, é possível distinguir apenas a curva de concentração 10<sup>-4</sup> M, mostrando-se inconclusivo. Os espetros de ângulo de fase da impedância e do fator de dissipação, no intervalo de frequências entre 10<sup>5</sup> e 10<sup>6</sup> Hz, permitem distinguir as curvas correspondentes à maioria das concentrações testadas, verificando-se que quanto maior a concentração de TCS presente, menores os valores de ângulo de fase e maiores os valores de fator de dissipação medidos.

Fazendo uma análise geral dos espetros, embora não sejam resultados tão bons quanto os obtidos para o sensor de (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub>, verifica-se uma melhoria relativamente ao sensor sem revestimento sensorial, em termos de sensibilidade e potencial qualitativo e quantitativo das concentrações de TCS, podendo-se concluir que o sensor com revestimento (PEI/DNA)<sub>10</sub>, apresenta um funcionamento razoável para a detecção de diferentes concentrações de TCS, podendo ser usado como referência futura para reprodutibilidade de um método para o objetivo proposto.

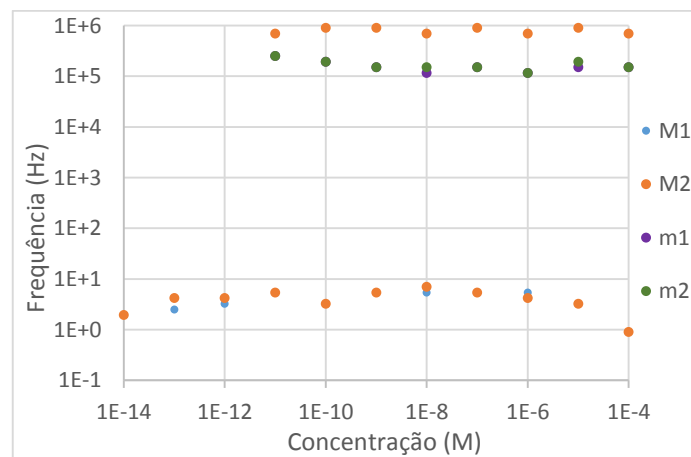






**Figura 4.19 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PEI/DNA)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS.**

Analisando o comportamento elétrico do sensor para quatro valores de frequência fixa escolhidos, entre  $10^0$  e  $10^4$  Hz, na figura 4.19, verificam-se valores de capacitância mais ou menos constantes em função da concentração de TCS presente, com um ligeiro decréscimo da capacitância para as frequências mais altas. Para o espectro do fator de dissipação, é possível verificar um decréscimo dos valores de fator de dissipação com o aumento da concentração de TCS presente. Comparando os valores de capacitância e fator de dissipação em função da frequência do sensor revestido com (PEI/DNA)<sub>10</sub> com o sensor sem revestimento, verificam-se valores semelhantes de capacitância e valores de fator de dissipação superiores, podendo-se associar valores superiores de fator de dissipação medidos a um melhor desempenho do sensor.

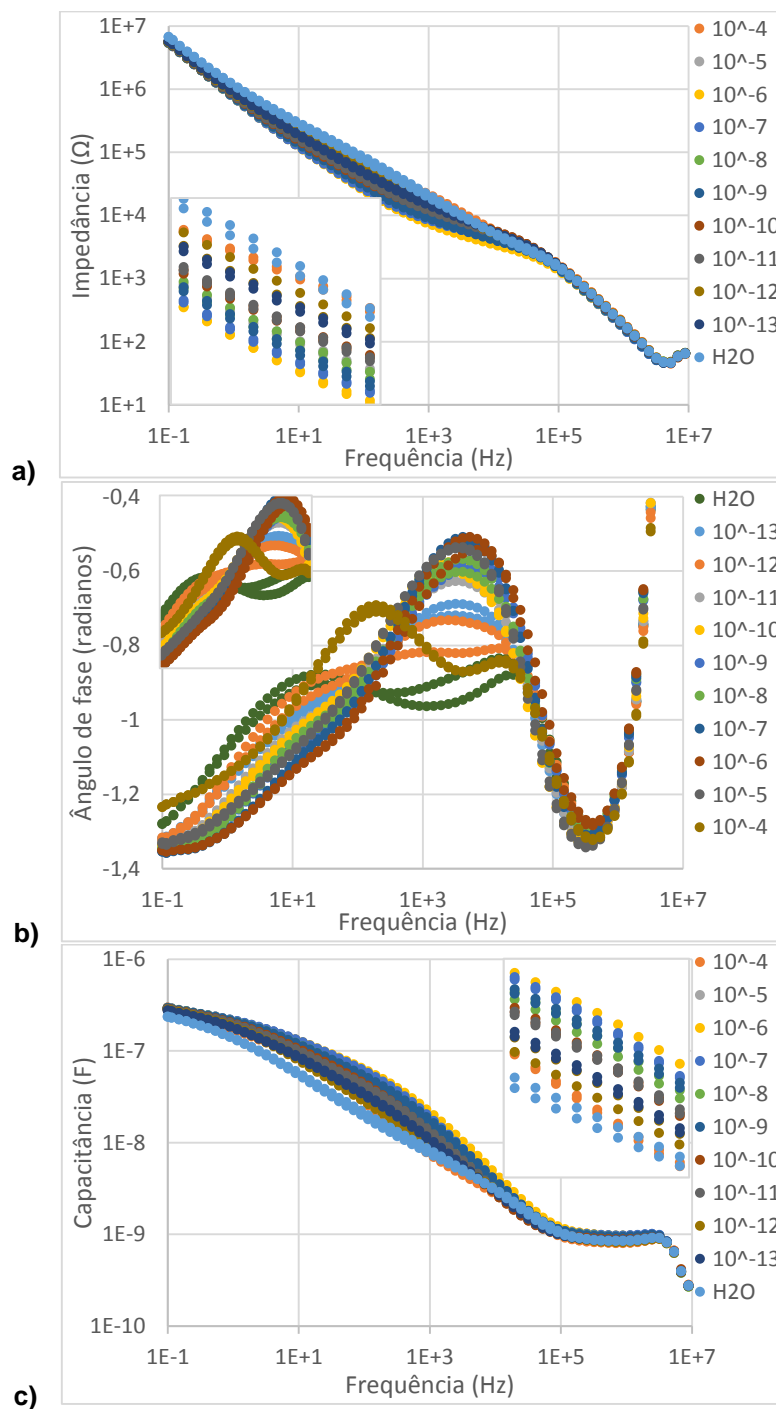


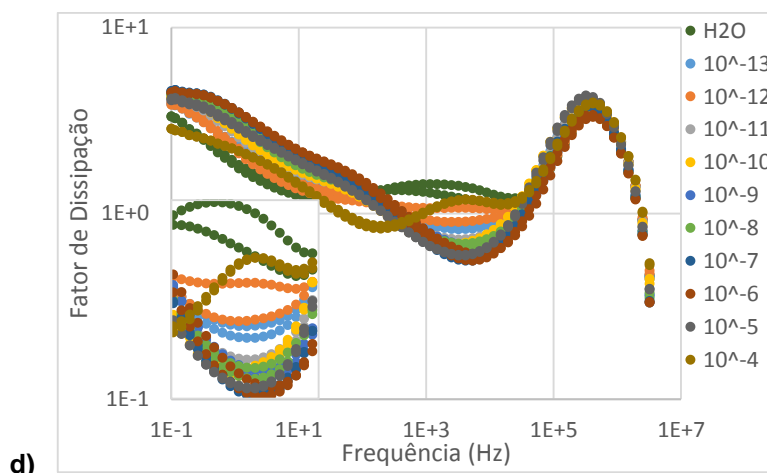
**Figura 4.20 Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PEI/DNA)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos.**

Finalmente, estudou-se a variação dos valores de frequência para cada concentração de TCS nos pontos máximos e mínimos das curvas do gráfico de fator de dissipação em função da frequência. Na figura 4.20, observam-se máximos nas frequências de 689419.1 Hz e 890419 Hz e nas frequências de 0.890419 Hz (para  $10^{-4}$  M), 1.91835 Hz, 3.2 Hz, 4.132959 Hz, 5.337922 Hz e 6.894191 Hz. Mínimos nas frequências de 115002 Hz, 148530.8 Hz, 191835 Hz e 247764.4 Hz. As frequências nos primeiros pontos máximos e mínimos são semelhantes não só entre sensores, mas também às obtidas para o sensor sem revestimento sensorial.

#### 4.2.5 Análise de sensor revestido com (PEI/GO)<sub>10</sub> em soluções aquosas de triclosan

Na figura 4.21 podem observar-se as diferentes características elétricas do sensor revestido com um filme fino com dez bicamadas de PEI e GO, (PEI/GO)<sub>10</sub>, em função da frequência, na presença de diferentes concentrações de TCS em água ultrapura.



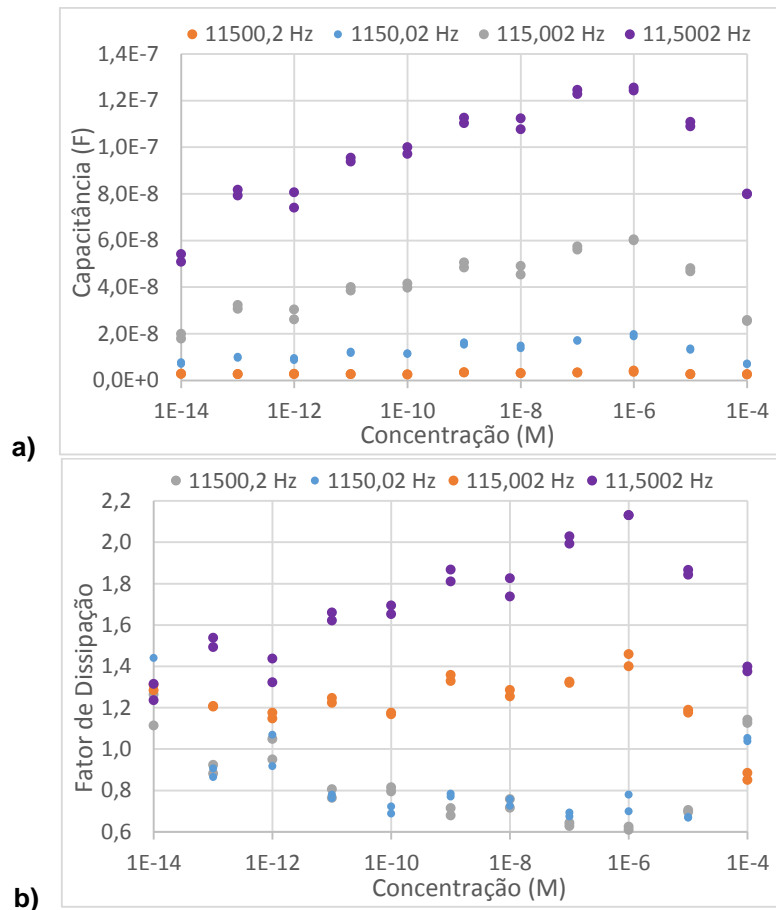


**Figura 4.21** Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PEI/GO)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre 10<sup>2</sup> e 10<sup>4</sup> Hz.

Nos gráficos da figura 4.21 estão representados os espectros de impedância, ângulo de fase, capacitância e fator de dissipação do sensor revestido com um filme fino de (PEI/GO)<sub>10</sub>. Fazendo uma análise dos espectros de impedância e de capacitância, estes mostram-se inconclusivos. No espectro de impedância é possível distinguir algumas concentrações pontuais, no intervalo de frequências entre 10 e 10<sup>3</sup> Hz, e no da capacitância é possível distinguir as curvas correspondentes a cada uma das concentrações de TCS, mas não se consegue estabelecer um padrão que nos permita quantificar o TCS presente nas soluções. Nos espectros de ângulo de fase da impedância e do fator de dissipação é possível distinguir e quantificar as curvas correspondentes a cada uma das concentrações de TCS, no intervalo de frequências entre 10<sup>2</sup> e 10<sup>5</sup> Hz. Algumas das curvas correspondentes a certas concentrações são mais difíceis de distinguir neste intervalo, podendo ser de interesse analisar adicionalmente o espectro de fator de dissipação no intervalo de frequências entre 0.1 e 10<sup>2</sup> Hz. Em ambos os espectros, é possível identificar claramente as curvas correspondentes às concentrações menores de TCS, nomeadamente água ultrapura, e entre 10<sup>-13</sup> e 10<sup>-10</sup> M, verificando-se assim uma maior sensibilidade para as concentrações menores de TCS.

Para uma frequência de referência, 10<sup>4</sup> Hz, é possível observar que quanto maior a concentração de TCS presente, maiores os valores de ângulo de fase da impedância medidos e menores os valores de fator de dissipação. É também digno de nota o facto de ser possível observar uma variação característica nas concentrações superiores de TCS, que representa um maior número de pontos máximos e mínimos e menos acentuados, não só na curva correspondente à concentração de 10<sup>-4</sup> M, mas também nas curvas das concentrações mais pequenas, 10<sup>-13</sup>, 10<sup>-12</sup> M e água ultrapura.

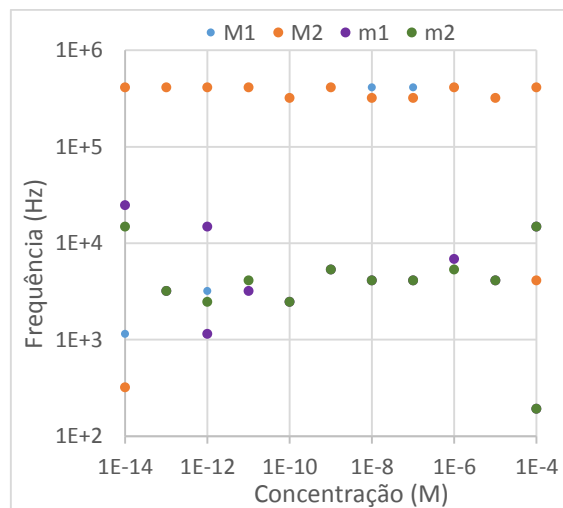
Após análise dos espectros do sensor revestido com (PEI/GO)<sub>10</sub>, pode-se concluir que este permite a deteção e distinção das diferentes concentrações de TCS presentes, apresentando uma maior sensibilidade e potencial qualitativo e quantitativo comparativamente ao sensor sem revestimento sensorial, podendo ser usado como referência futura para reprodutibilidade de um método fiável para o objetivo proposto.



**Figura 4.22 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PEI/GO)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS.**

Analisando o comportamento elétrico do sensor para quatro valores de frequência fixa escolhidos, entre  $10^{-14}$  e  $10^{-4}$  Hz, na figura 4.22, verifica-se o aumento dos valores de capacitância e fator de dissipação com o aumento da concentração de TCS presente, seguido de um decréscimo para as concentrações de  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  M, tal como no caso do sensor sem revestimento sensorial.

Comparando os valores de capacitância e fator de dissipação em função da frequência do sensor revestido com (PEI/GO)<sub>10</sub> com o sensor sem revestimento, é possível observar valores de capacitância e fator de dissipação menores, o que vai de encontro com o que foi observado para os outros sensores com revestimento. Seria de esperar podermos associar valores maiores medidos de capacitância e fator de dissipação a um melhor desempenho do sensor, o que neste caso não se verifica.



**Figura 4.23** Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PEI/GO)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água ultrapura com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos.

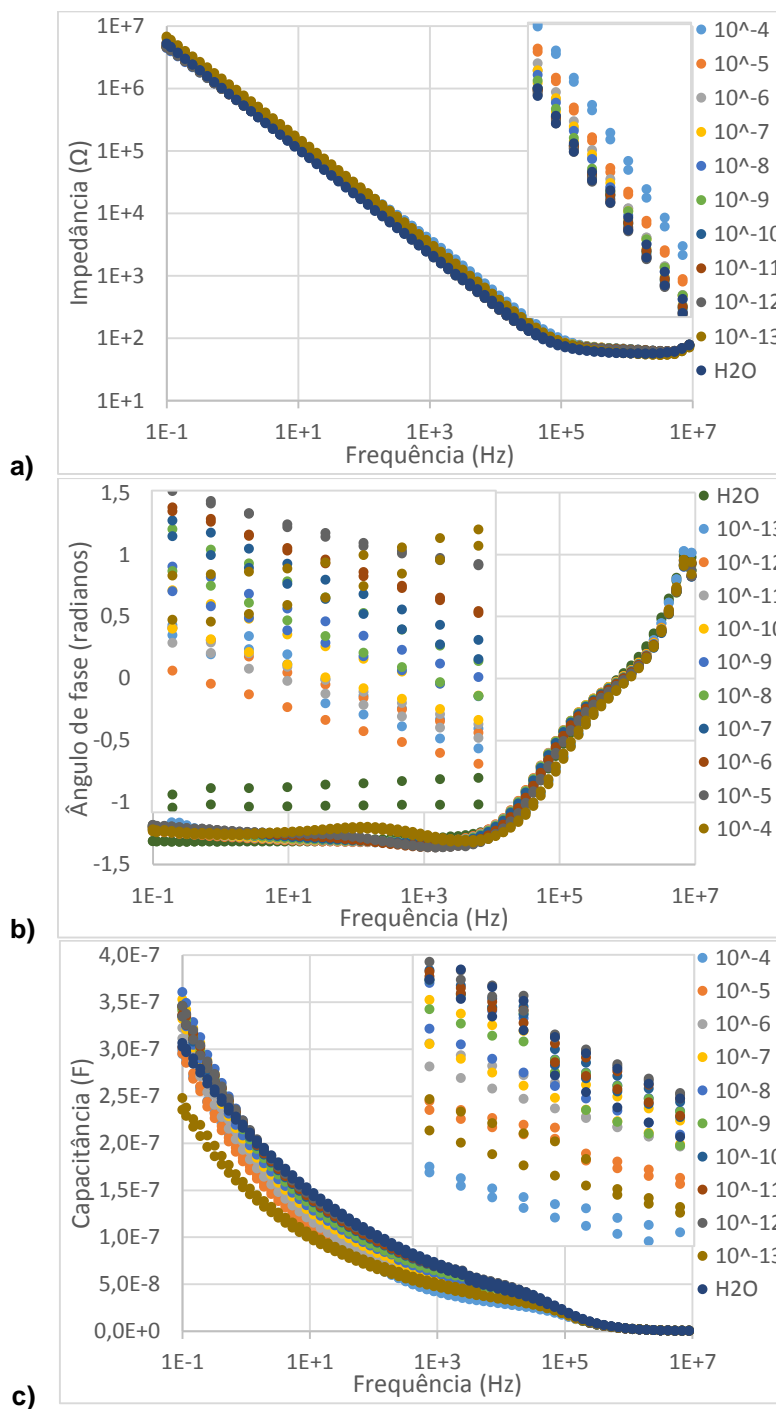
Por fim, estudou-se a variação dos valores de frequência para cada concentração de TCS nos pontos máximos e mínimos das curvas do gráfico de fator de dissipação em função da frequência. Na figura 4.23, verificam-se máximos nas frequências de 320000 Hz e 413295,9 Hz, e mínimos no intervalo de frequências entre 2477,644 Hz e 6894,191 Hz. É ainda possível observar uma certa oscilação nos mínimos e um ponto máximo extra para a concentração de  $10^{-4}M$ , que pode estar relacionado com a perda de filme após as várias medições em solução aquosa. Apesar deste ponto, verifica-se que os valores de frequência para pontos máximos e mínimos de fator de dissipação para cada concentração de TCS, são semelhantes com os obtidos para o sensor sem revestimento sensorial.

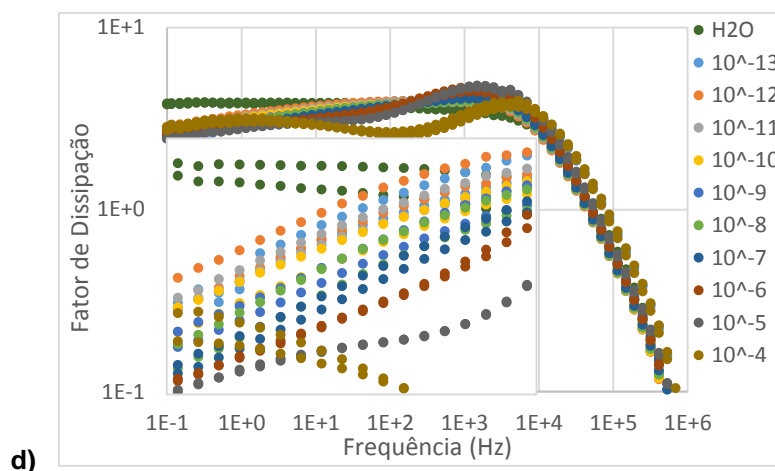
### 4.3 Análise de soluções simples com elétrodos interdigitados com revestimentos sensoriais em meio aquoso complexo

Após o estudo das características elétricas dos sensores em água ultrapura, procedeu-se à preparação e análise do comportamento elétrico dos sensores com diferentes revestimentos sensoriais em meio aquoso complexo, i.e. água da torneira, com o objetivo de verificar se é possível obter o mesmo grau de sensibilidade para os diversos sensores. Foram analisados cinco pares de sensores interdigitados com os diferentes revestimentos sensoriais usados anteriormente, para dez soluções aquosas de diferentes concentrações de TCS em água da torneira. Para esta fase, foi seguida uma metodologia similar à anterior, de modo a assegurar a consistência nos dados obtidos.

#### 4.3.1 Análise de sensor revestido com (PAH/GO)<sub>10</sub> em soluções aquosas complexas de triclosan

Na figura 4.24 podem observar-se as diferentes características elétricas do sensor revestido com um filme fino com dez bicamadas de PAH e GO, (PAH/GO)<sub>10</sub>, em função da frequência, na presença de diferentes concentrações de TCS em água da torneira.



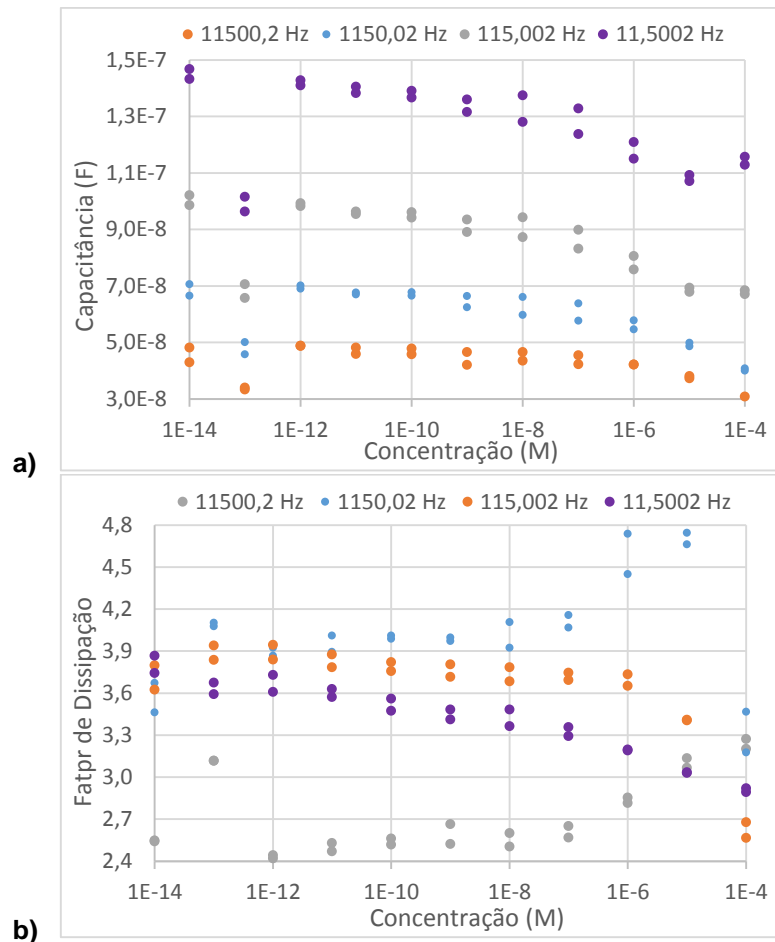


**Figura 4.24** Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PAH/GO)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre 10<sup>2</sup> e 10<sup>4</sup> Hz, no caso dos espectros de impedância e de capacitância, entre 1 e 10<sup>2</sup> no caso dos espectros de ângulo de fase e de fator de dissipação.

Nos gráficos da figura 4.24 estão representados os espectros de impedância, ângulo de fase, capacitância e fator de dissipação do sensor revestido com um filme fino de (PAH/GO)<sub>10</sub>. Analisando os espectros de impedância e o espectro de capacitância, no intervalo de frequências entre 10<sup>3</sup> e 10<sup>5</sup> Hz, é possível distinguir as curvas correspondentes a todas as concentrações de TCS presente, embora estas não estejam distintamente separadas umas das outras, principalmente as de concentrações menores. Para este intervalo, quanto maior a concentração de TCS, maiores os valores de impedância e menores os valores de capacitância detetados.

Analisando os espectros de ângulo de fase e do fator de dissipação, é possível distinguir as curvas correspondentes a cada uma das concentrações de TCS presentes, mas no intervalo de frequências entre 1 e 10<sup>2</sup> Hz. Para este intervalo, quanto maior a concentração de TCS presente, maiores os valores de ângulo de fase medidos e menores os valores de fator de dissipação. Este comportamento inverte-se para frequências mais altas, na ordem dos 10<sup>4</sup> Hz. Por outras palavras, consoante a fração do sensor que estejamos a analisar, o comportamento vai variar para diferentes ordens de grandeza de frequência. Neste espectro é possível perceber ainda uma ligeira variação maior para a curva correspondente à concentração de 10<sup>-4</sup> M, o que pode indicar que quanto maior a concentração de TCS presente na solução, maior será a variação observada no espectro. Concentrações menores deverão apresentar uma menor quantidade de máximos e mínimos e mais acentuados, enquanto concentrações maiores poderão apresentar um maior número de máximos e mínimos e menos acentuados.

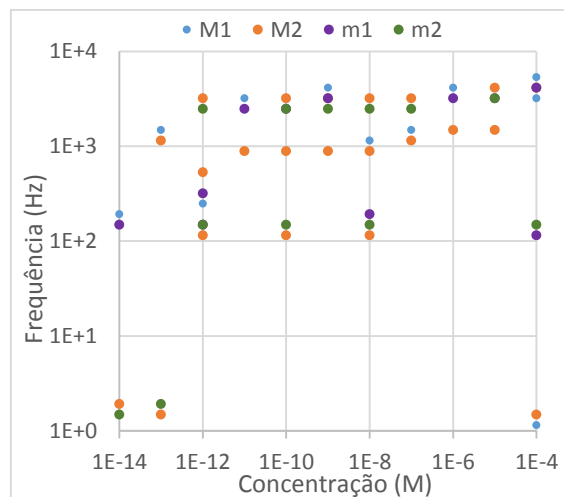
Fazendo uma análise geral dos espectros, verifica-se uma maior sensibilidade e potencial qualitativo e quantitativo das concentrações de TCS no sensor revestido com (PAH/GO)<sub>10</sub>, relativamente ao sensor sem revestimento sensorial, tanto em água ultrapura como em água da torneira. Conclui-se que este sensor com revestimento sensorial (PAH/GO)<sub>10</sub>, apresenta um bom desempenho na deteção e distinção das diferentes concentrações de TCS presentes em meio aquoso complexo, podendo ser usado como referência futura para reprodutibilidade de um método fiável para o objetivo proposto.



**Figura 4.25 - a) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PAH/GO)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS**

Analisando o comportamento elétrico do sensor para quatro valores de frequência fixa escolhidos, entre  $10^1$  e  $10^4$  Hz, na figura 4.25, verifica-se um ligeiro decréscimo dos valores de capacitância com o aumento da concentração de TCS presente, como tinha sido verificado para o mesmo sensor revestido com (PAH/GO)<sub>10</sub> em água ultrapura e para o sensor sem revestimento em água da torneira. Para o espectro do fator de dissipação, verifica-se uma diferença nos resultados observados comparativamente ao sensor revestido com (PAH/GO)<sub>10</sub> em água ultrapura e para o sensor sem revestimento, uma vez que se esperava observar um decréscimo dos valores de fator de dissipação com o aumento da concentração de TCS presente. No entanto, verifica-se o decréscimo dos valores de fator de dissipação com o aumento da concentração de TCS presente, para as frequências de 11,5002 Hz e 115,002 Hz, e o aumento dos valores de fator de dissipação com o aumento da concentração de TCS, para as frequências de 1150,02 Hz e 11500,2 Hz. Adicionalmente, também não se verifica para este sensor em água da torneira a relação verificada para o mesmo sensor em água ultrapura. Para as mesmas concentrações, esperavam-se valores de capacitância e de fator de dissipação mais elevados do que aqueles que foram obtidos.



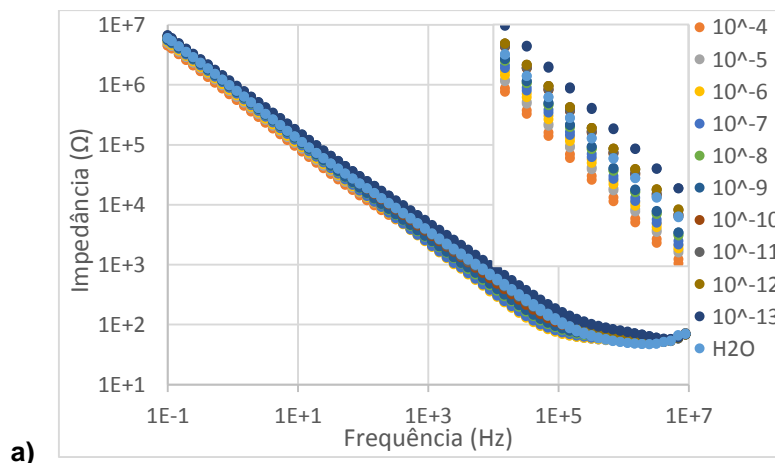


**Figura 4.26 - Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PAH/GO)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos.**

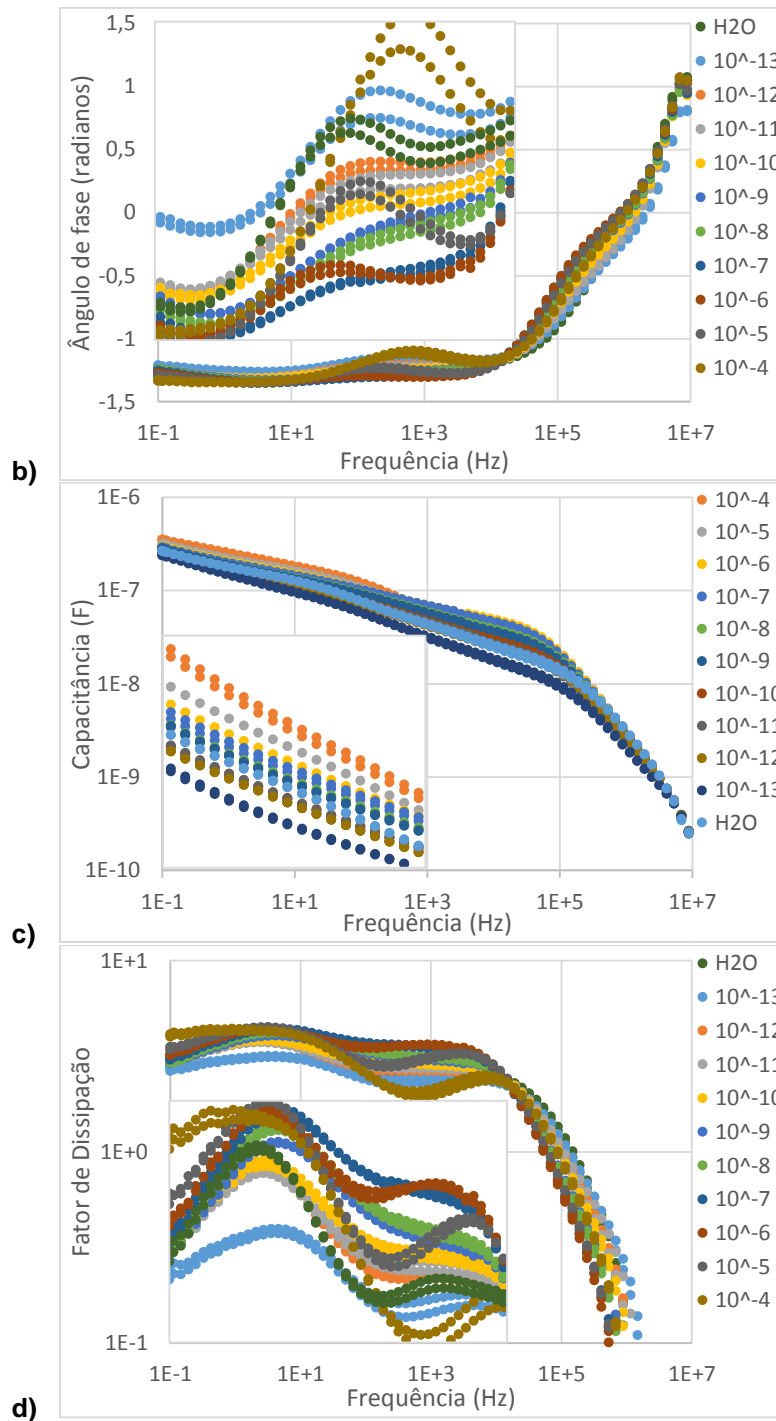
Finalmente, estudou-se a variação dos valores de frequência para cada concentração de TCS nos pontos máximos e mínimos das curvas do gráfico de fator de dissipação em função da frequência. Na figura 4.26, verifica-se que os valores máximos e mínimos de fator de dissipação para cada concentração de TCS, se situam aproximadamente nas mesmas grandezas de frequências, no entanto, verifica-se um número de máximos e mínimos superior para todas as concentrações, contrariamente ao observado para o sensor quando testado em meio aquoso simples que apresentavam apenas um máximo e um mínimo para cada concentração de TCS. Os máximos e mínimos situam-se no intervalo de frequências entre 115.002 Hz e 5337.922 Hz. Os máximos nas frequências 115.002 Hz e 148.5308 Hz, 890.419 Hz e 1150.02 Hz, 2477.644 Hz e 3200 Hz. As concentrações de água da torneira,  $10^{-13}M$  e  $10^{-4}M$  apresentam ainda um máximo e mínimo extra, nas frequências de 1,485309 Hz e 1,91835 Hz. Estes resultados não são semelhantes aos obtidos nem para o sensor sem revestimento nem para o sensor revestido com (PAH/GO)<sub>10</sub> quando analisado em água ultrapura.

#### 4.3.2 Análise de sensor revestido com (PAH/DNA)<sub>10</sub> em soluções aquosas complexas de triclosan

Na figura 4.27 podem observar-se as diferentes características elétricas do sensor revestido com um filme fino com dez bicamadas de PAH e DNA, (PAH/DNA)<sub>10</sub>, em função da frequência, na presença de diferentes concentrações de TCS em água da torneira.



a)



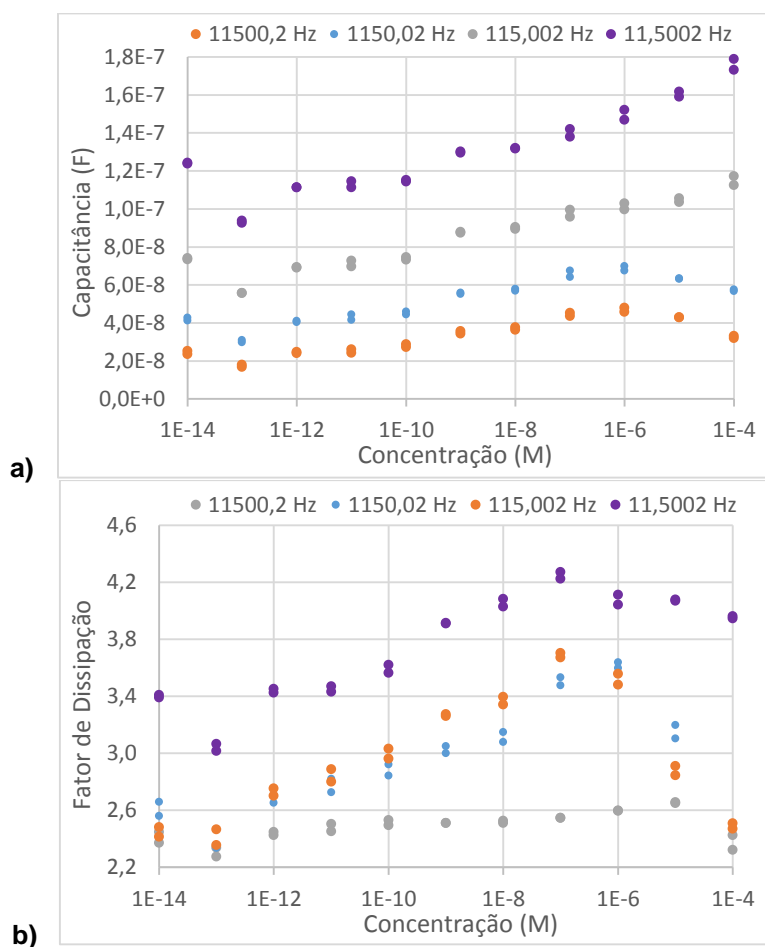
**Figura 4.27** Espetros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espetros corresponderam ao intervalo de frequências entre 10<sup>4</sup> e 10<sup>5</sup> Hz, no caso dos espetros de impedância, entre 1 e 10<sup>4</sup> no caso dos espetros de ângulo de fase e de fator de dissipação, e entre 10 e 10<sup>2</sup> no caso dos espetros de capacitância.

Nos gráficos da figura 4.27 estão representados os espetros de impedância, ângulo de fase, capacitância e fator de dissipação do sensor revestido com um filme fino de (PAH/DNA)<sub>10</sub>. Analisando os espetros de impedância e capacitância, no intervalo de frequências entre 10 e 10<sup>2</sup> Hz, é não só possível distinguir as curvas correspondentes a todas as concentrações de TCS presentes, como estas se encontram bem definidas. Apenas a curva correspondente a água da torneira apresenta um comportamento muito diferente do que seria esperado, podendo ter sofrido

alguma contaminação, mas apenas se verifica para estes dois espectros. Para este intervalo de frequência, verifica-se que quanto maior a concentração de TCS presente, menores os valores de impedância e maiores os valores de capacitância medidos.

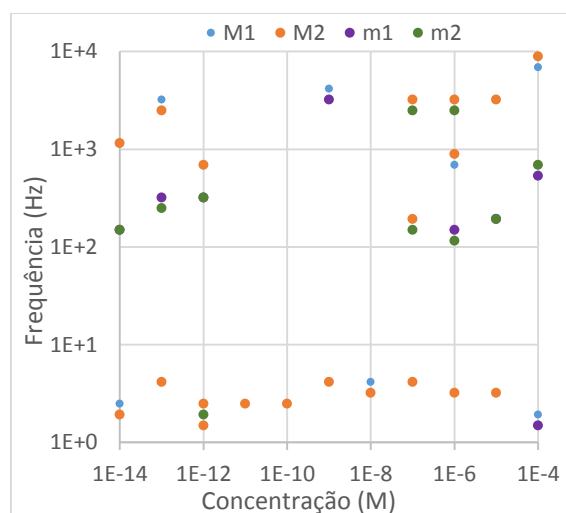
Analisando os espectros de ângulo de fase e fator de dissipação, no intervalo de frequências entre 1 e  $10^4$  Hz, é possível fazer a distinção das curvas correspondentes a todas as concentrações de TCS presentes, sendo estas bem discerníveis e permitindo quantificar o TCS presente na solução. As curvas correspondentes às concentrações de  $10^{-5}$  M e  $10^{-4}$  M, por sua vez, apresentam um comportamento muito diferente do esperado, quer comparativamente às curvas de outras concentrações próximas quer comparativamente às curvas das mesmas concentrações observadas anteriormente para o mesmo sensor em água ultrapura. Este comportamento irregular pode dever-se a uma saturação do sensor, sendo nesse caso um comportamento típico esperado, uma vez que as curvas correspondentes às concentrações de  $10^{-5}$  M e  $10^{-4}$  M apresentam a variação já observada, muito superior às concentrações menores. Nota-se uma variação mais ténue para a concentração de  $10^{-6}$  M. Para o intervalo de frequências entre 1 a  $10^2$  Hz, quanto maior a concentração de TCS presente, menores os valores de ângulo de fase da impedância e maiores os valores de fator de dissipação medidos.

Comparando os resultados obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA)<sub>10</sub> em água da torneira com os obtidos para o mesmo sensor em água ultrapura e para o sensor sem revestimento, verifica-se uma significativa melhoria. Estes resultados permitem concluir que o sensor com revestimento sensorial (PAH/DNA)<sub>10</sub> apresenta um bom desempenho na deteção e quantificação de concentrações de TCS em meio aquoso complexo, podendo ser usado como referência futura para reprodutibilidade de um método fiável para o objetivo proposto.



**Figura 4.28 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS.**

Analisando o comportamento elétrico do sensor para quatro valores de frequência fixa escolhidos, entre  $10^0$  e  $10^4$  Hz, na figura 4.28, verifica-se o aumento dos valores de capacitância com o aumento da concentração de TCS presente, seguido de um decréscimo para as concentrações de  $10^{-5}$  e  $10^{-4}$  M para as frequências mais alta. No espectro de fator de dissipação, verifica-se o aumento dos valores com o aumento da concentração de TCS, seguido de um decréscimo para as concentrações de  $10^{-6}$  a  $10^{-4}$  M. O sensor revestido com (PAH/DNA)<sub>10</sub>, testado em água da torneira apresenta um comportamento elétrico diferente do observado em água ultrapura, assim como valores de capacitância e fator de dissipação superiores em função da frequência. Este aumento pode ser explicado pelo melhor desempenho do sensor em água da torneira na detecção das diferentes concentrações de TCS. Comparativamente ao sensor sem revestimento sensorial, o sensor revestido com (PAH/DNA)<sub>10</sub> apresenta um melhor desempenho, mas valores de capacitância e fator de dissipação inferiores. Esta melhoria nos resultados obtidos pode dever-se quer devido ao aumento da condutividade da água da torneira relativamente à água ultrapura, mas também ao aumento da condutividade derivada dos polímeros usados no filme fino.

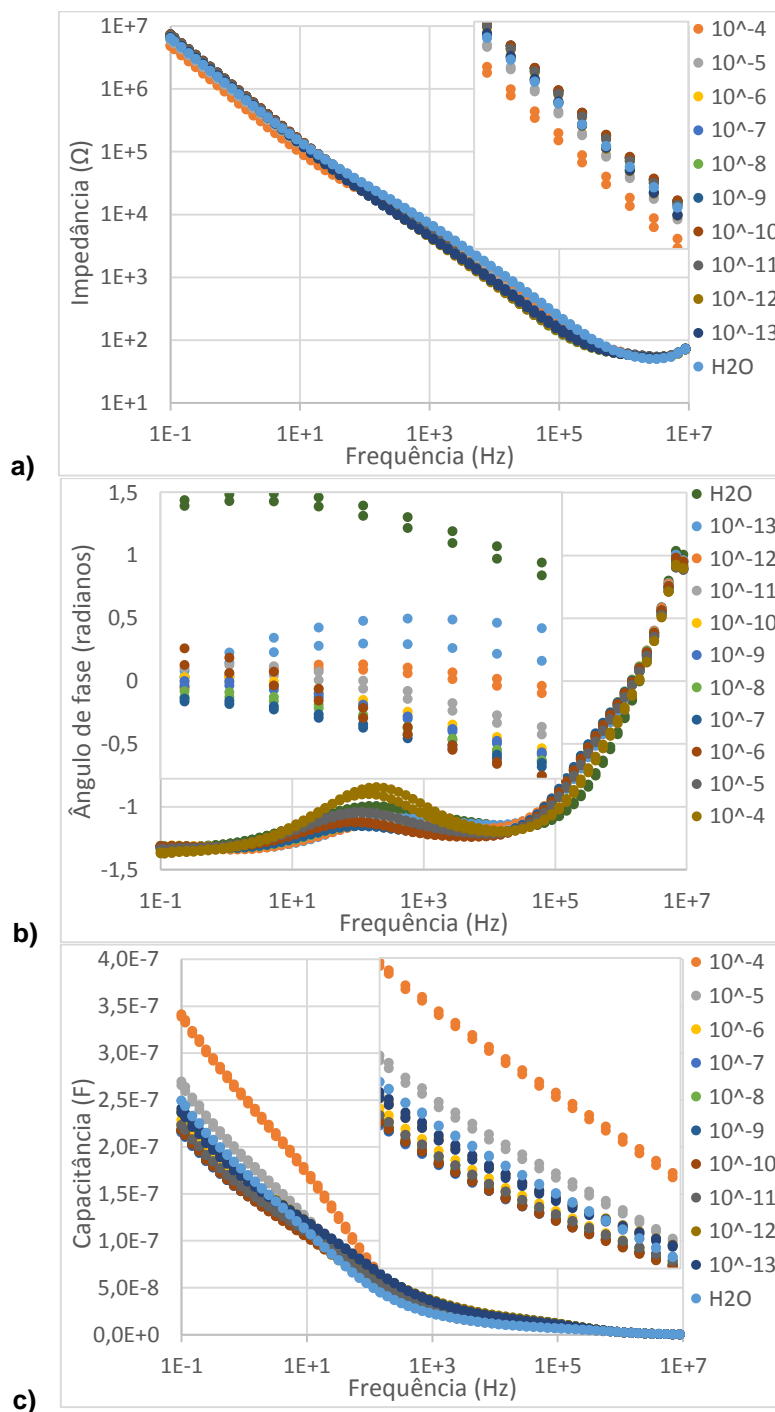


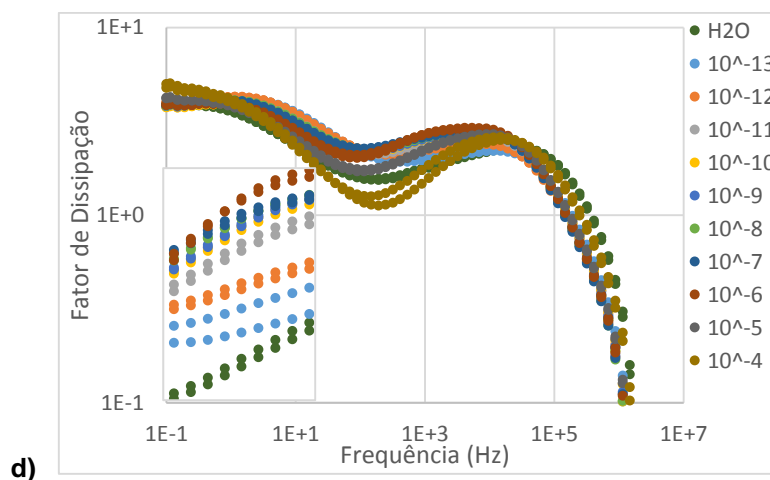
**Figura 4.29** Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PAH/DNA)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos.

Por fim, estudou-se a variação dos valores de frequência para cada concentração de TCS nos pontos máximos e mínimos das curvas do gráfico de fator de dissipação em função da frequência. Na figura 4.29, verifica-se que os valores máximos e mínimos de fator de dissipação para cada concentração de TCS, se situam aproximadamente nas mesmas grandezas de frequências. Máximos nos intervalos de frequências entre 1.485309 Hz e 4.132959 Hz, 890.419 Hz e 8904.19 Hz, e nas frequências 191.835 Hz e 689.4191 Hz. Mínimos no intervalo de frequências entre 115.002 Hz e 689.4191 Hz e nas frequências de 1.485309 Hz, 1.91835 Hz, 2477.644 Hz e 3200 Hz. As frequências nos pontos máximos e mínimos são semelhantes em grandezas às frequências obtidas para o sensor sem revestimento sensorial.

### 4.3.3 Análise de sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub> em soluções aquosas complexas de triclosan

Na figura 4.30 podem observar-se as diferentes características elétricas do sensor revestido com um filme fino com dez bicamadas de PAH e DNA+GNPs, (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub>, em função da frequência, na presença de diferentes concentrações de TCS em água da torneira.



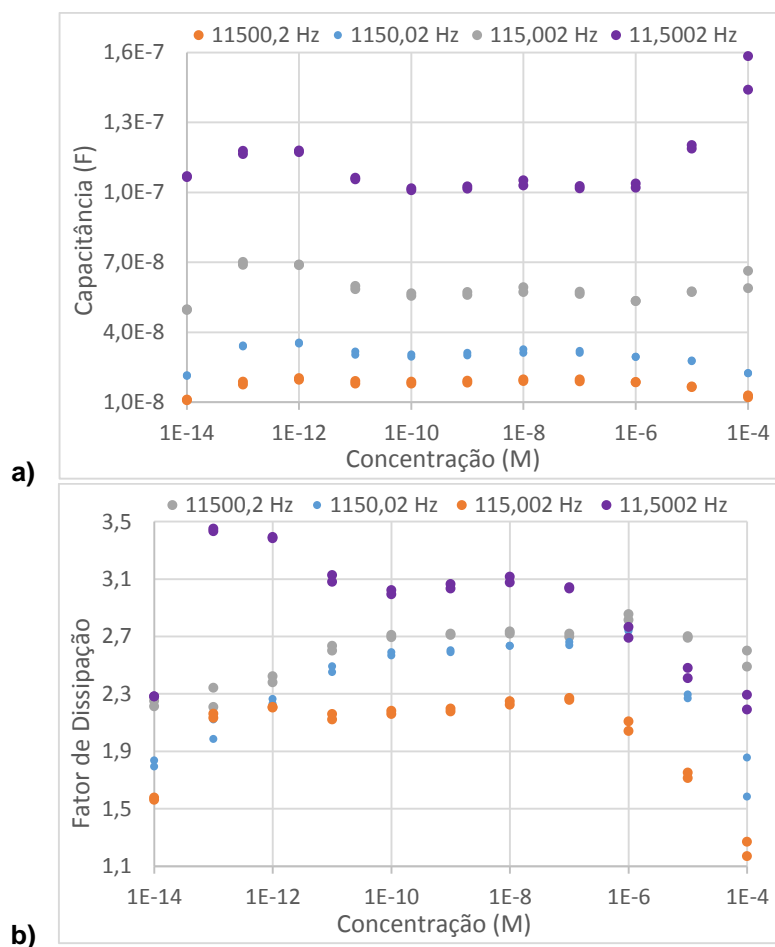


**Figura 4.30** Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre  $10^3$  e  $10^5$  Hz, no caso dos espectros de impedância e capacitância, entre 10 e  $10^3$  no caso dos espectros de ângulo de fase e fator de dissipação.

Nos gráficos da figura 4.30 estão representados os espectros de impedância, ângulo de fase, capacitância e fator de dissipação do sensor revestido com um filme fino de (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub>. Analisando os espectros de impedância e capacitância, estes não se mostram como uma opção viável para a detecção da concentração de TCS em solução aquosa. Em ambos os espectros, é possível distinguir as curvas correspondentes às concentrações de  $10^{-5}$  M e  $10^{-4}$  M, no intervalo de frequências entre 0.1 e 10 Hz, no entanto, não se consegue estabelecer um padrão que nos permita quantificar o TCS presente na solução.

Analisando os espectros de ângulo de fase e fator de dissipação, no intervalo de frequências entre  $10^2$  e  $10^4$  Hz, é possível fazer a distinção das curvas correspondentes a todas as concentrações de TCS presentes e estas são bem discerníveis, permitindo detectar e quantificar o TCS presente na solução. Para o intervalo de frequências mencionado, quanto maior a concentração de TCS presente, menores os valores de ângulo de fase e maiores os valores de fator de dissipação medidos. Para este sensor, tal como para o sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub>, as curvas correspondentes às concentrações de  $10^{-5}$  e  $10^{-4}$  M, apresentam um comportamento diferente do observado, quer comparativamente às curvas de outras concentrações próximas quer comparativamente às curvas das mesmas concentrações para o mesmo sensor em água ultrapura. O fator de dissipação, por exemplo, aumenta de  $10^{-13}$  até  $10^{-6}$  M, mas para as concentrações de  $10^{-5}$  e  $10^{-4}$  M, diminui drasticamente. Este comportamento pode dever-se a uma saturação do sensor, indicando que estes filmes não são adequados para a detecção destas concentrações de TCS, apenas para concentrações inferiores.

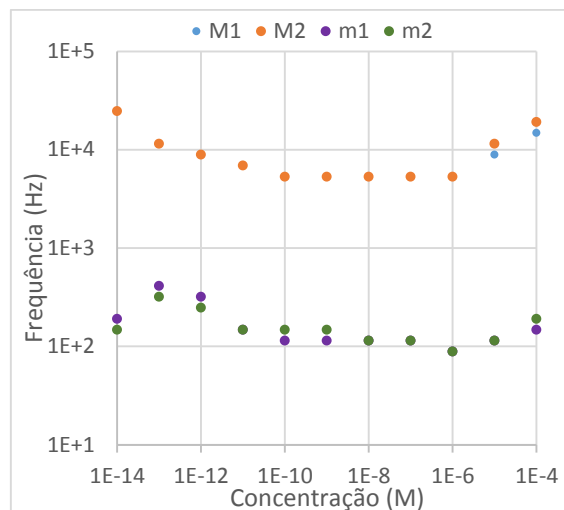
Comparando sensores, verifica-se uma significativa melhoria relativamente aos resultados obtidos para o sensor sem revestimento em água da torneira e uma ligeira melhoria relativamente ao sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub> quando testado em água ultrapura. Estes resultados permitem concluir que o sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub> apresenta um bom desempenho na detecção de diferentes concentrações de TCS em meio aquoso e pode ser usado como referência futura na reprodutibilidade de um método fiável para o objetivo proposto.



**Figura 4.31 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS.**

Analisando o comportamento elétrico do sensor para quatro valores de frequência fixa escolhidos, entre  $10^4$  e  $10^1$  Hz, na figura 4.31, verificam-se valores de capacitância mais ou menos constantes em função da concentração de TCS presente, seguido de um ligeiro decréscimo para as concentrações de  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$  M, para as frequências mais altas. Para o espectro de fator de dissipação, verifica-se um aumento dos valores do fator de dissipação em função da concentração de TCS, seguido de um decréscimo para as concentrações de  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$  M.

O sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub> apresenta um comportamento semelhante ao obtido para o sensor sem revestimento sensorial testado em água da torneira, mas bastante diferente do observado para o sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub> em água ultrapura. Comparando este sensor com o sensor sem revestimento sensorial testado em água da torneira, o sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub> apresenta um melhor desempenho, mas valores de capacitância e fator de dissipação inferiores.

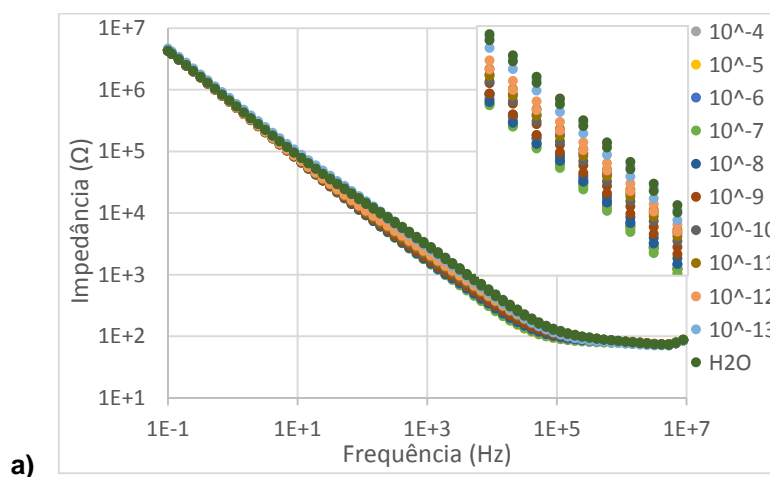


**Figura 4.32** Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos.

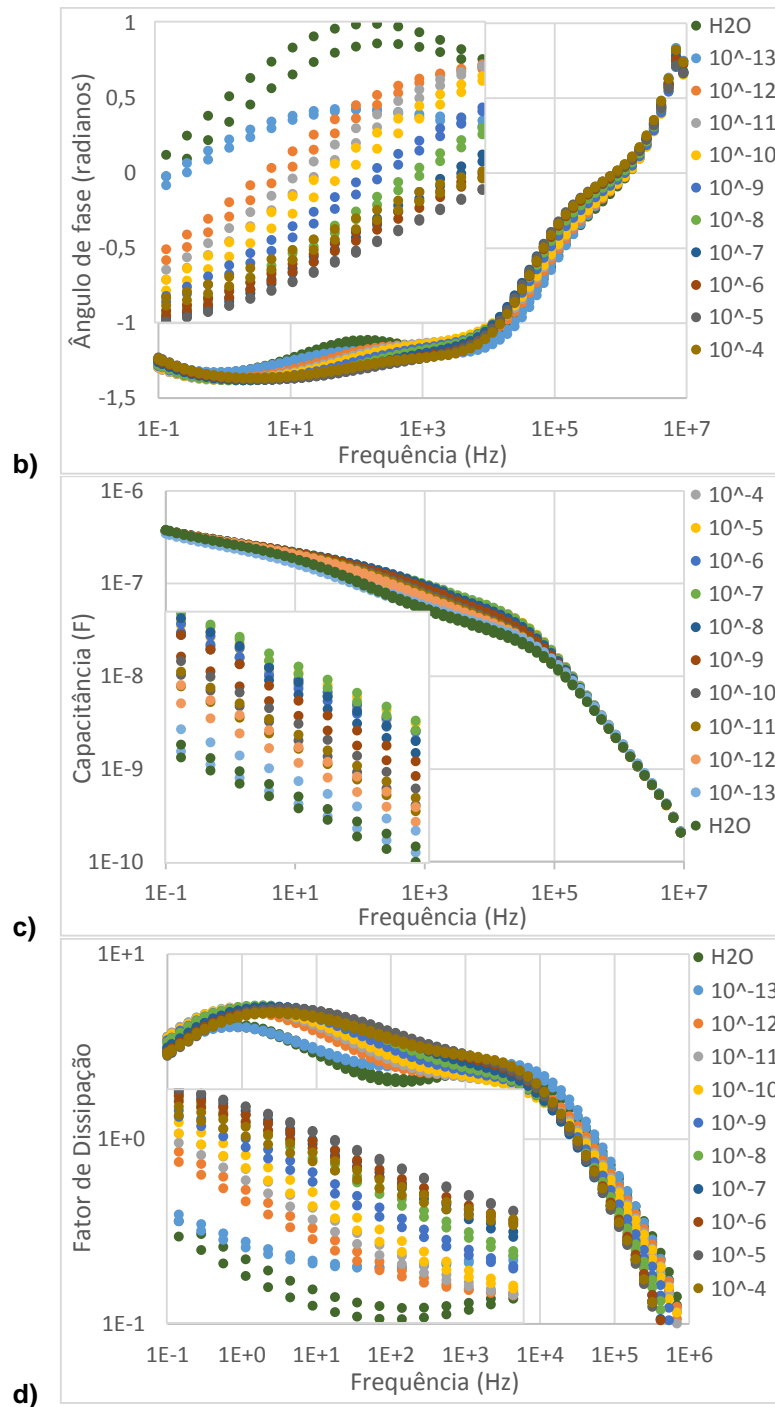
Finalmente, estudou-se a variação dos valores de frequência para cada concentração de TCS nos pontos máximos e mínimos das curvas do gráfico de fator de dissipação em função da frequência. Na figura 4.32, verifica-se que os valores máximos se situam no intervalo de frequências entre 5337,922 Hz e 24776,44 Hz, e mínimos no intervalo de frequências entre 89,0419 Hz e 413,2959 Hz. As frequências nos pontos máximos e mínimos são diferentes das frequências obtidas para o sensor sem revestimento sensorial, ao contrário do que tinha sido verificado para os testes do sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub> em água ultrapura.

#### 4.3.4 Análise de sensor revestido com (PEI/DNA)<sub>10</sub> em soluções aquosas complexas de triclosan

Na figura 4.33 podem observar-se as diferentes características elétricas do sensor revestido com um filme fino com dez bicamadas de PEI e DNA, (PEI/DNA)<sub>10</sub>, em função da frequência, na presença de diferentes concentrações de TCS em água da torneira.





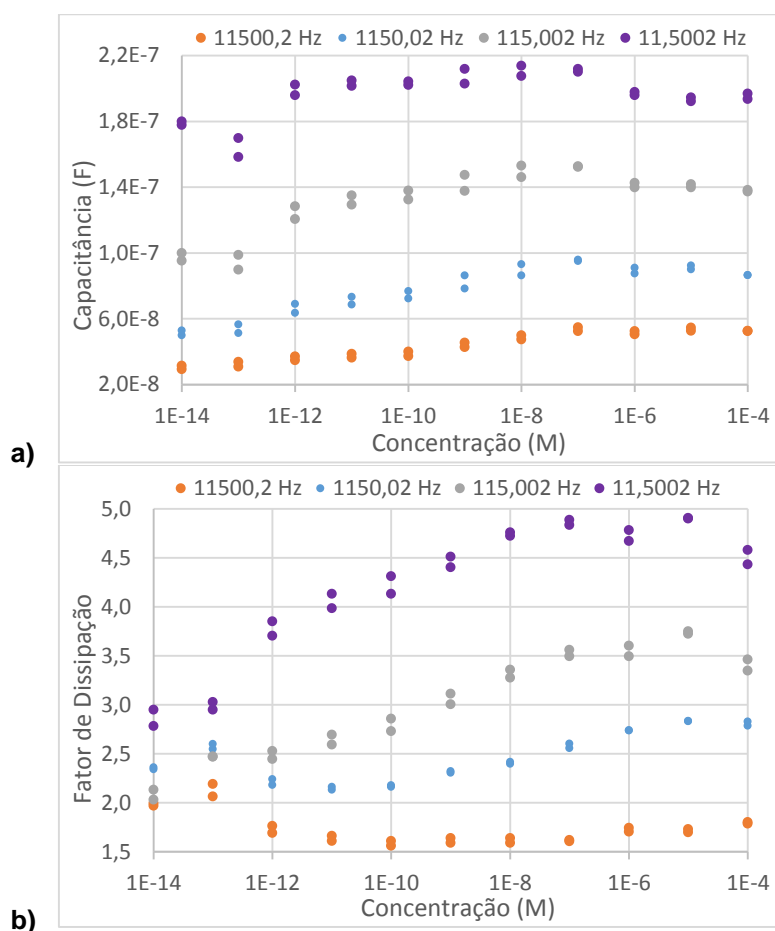


**Figura 4.33** Espetros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PEI/DNA)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espetros corresponderam ao intervalo de frequências entre 10<sup>3</sup> e 10<sup>4</sup> Hz, no caso dos espetros de impedância e capacitância, entre 10 e 10<sup>3</sup> no caso dos espetros de ângulo de fase e de fator de dissipação.

Nos gráficos da figura 4.33 estão representados os espetros de impedância, ângulo de fase, capacitância e fator de dissipação do sensor revestido com um filme fino de (PEI/DNA)<sub>10</sub>. Fazendo uma análise do espectro de impedância, este mostra-se inconclusivo, sendo apenas possível identificar a curva correspondente à concentração de 10<sup>-4</sup>M. Analisando os espetros de capacitância, ângulo de fase e fator de dissipação, no intervalo de frequências entre 10 e

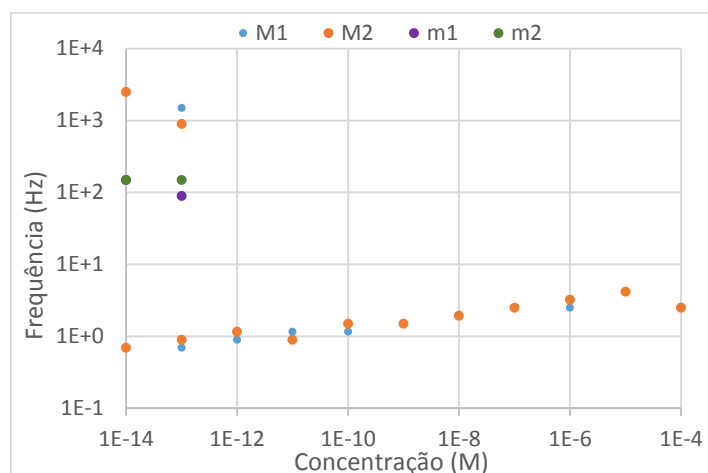
$10^3 \text{ Hz}$ , é possível distinguir as curvas correspondentes a cada uma das concentrações de TCS presentes, sendo estas bem discerníveis e permitindo quantificar o TCS presente na solução. Para este intervalo de frequências, quanto maior a concentração de TCS presente, maiores os valores da capacitância e do fator de dissipação e menores os valores do ângulo de fase. Similarmente ao sensor revestido com  $(\text{PAH}/\text{DNA})_{10}$  e ao sensor revestido com  $(\text{PAH}/\text{DNA}+\text{GNPs})_{10}$ , a curva correspondente à concentração de  $10^{-4} \text{ M}$  apresenta um comportamento que indica a saturação do sensor.

Comparando os resultados obtidos para o sensor revestido com  $(\text{PEI}/\text{DNA})_{10}$  com resultados obtidos para os sensores com outros revestimentos, quer em água ultrapura quer em água da torneira, este sensor parece ser um dos que apresentou melhores resultados, verificando-se inclusive uma melhoria significativa comparativamente ao sensor sem revestimento sensorial. A maior sensibilidade e consequente potencial qualitativo e quantitativo das concentrações de TCS presentes, leva-nos a concluir que o sensor com revestimento sensorial  $(\text{PEI}/\text{DNA})_{10}$ , apresenta um bom funcionamento para a detecção e distinção das diferentes concentrações de TCS presentes, podendo ser usado como referência futura para reprodutibilidade de um método fiável para o objetivo proposto.



**Figura 4.34 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com  $(\text{PEI}/\text{DNA})_{10}$ , imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS.**

Analisando o comportamento elétrico do sensor para quatro valores de frequência fixa escolhidos, entre  $10^1$  e  $10^4$  Hz, na figura 4.34, verifica-se que os valores de capacitância se mantêm mais ou menos constantes, independentemente da concentração de triclosan presente, havendo um ligeiro decréscimo da capacitância para as concentrações maiores, de  $10^{-6}$  a  $10^{-4}$  M, tal como no caso do sensor sem revestimento sensorial e para este mesmo sensor quando testado em água ultrapura. No espectro de fator de dissipação, verifica-se um aumento dos valores de fator de dissipação com o aumento da concentração de TCS, seguido de um ligeiro decréscimo para a concentração de  $10^{-4}$  M. O sensor revestido com (PEI/DNA)<sub>10</sub> apresenta um comportamento elétrico semelhante independentemente da frequência escolhida. Comparativamente ao sensor sem revestimento sensorial testado em água da torneira, o sensor revestido com (PEI/DNA)<sub>10</sub> apresenta um melhor desempenho e valores de capacitância e fator de dissipação semelhantes aos verificados para o sensor sem revestimento.

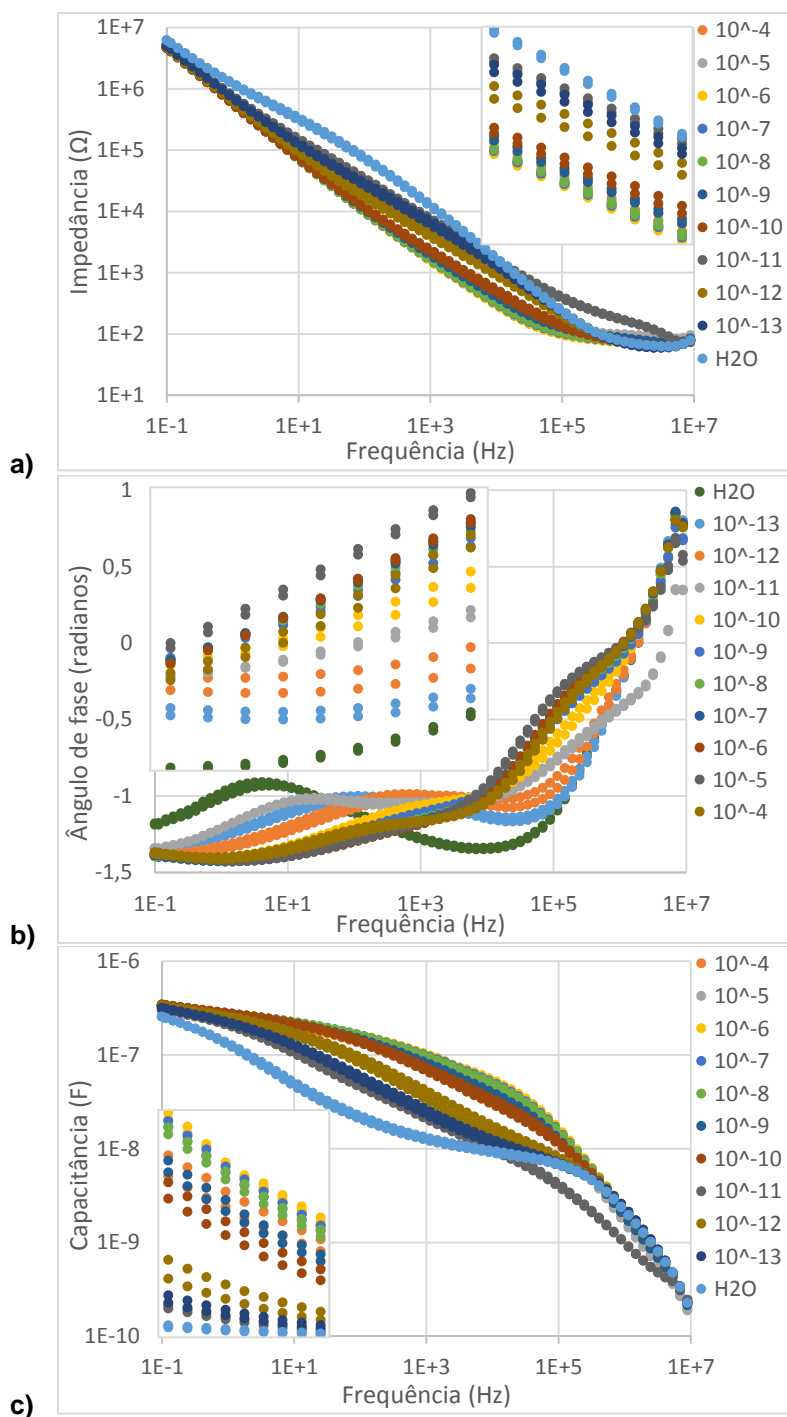


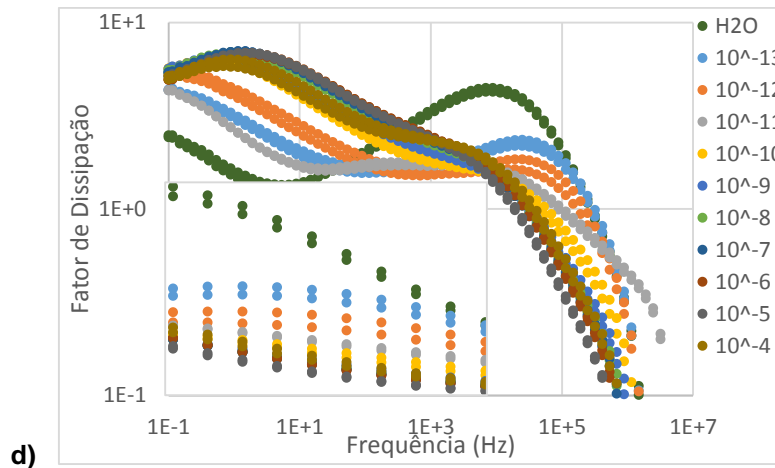
**Figura 4.35** Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PEI/DNA)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos.

Por fim, estudou-se a variação dos valores de frequência para cada concentração de TCS nos pontos máximos e mínimos das curvas do gráfico de fator de dissipação em função da frequência. Na figura 4.35, é possível observar um máximo para cada concentração de TCS, que se encontram no intervalo de frequências entre 0.6894191 Hz e 4.132959 Hz. Para a concentração de  $10^{-13}$  M e água da torneira, encontram-se máximos nas frequências de 890.419 Hz e 1485.308 Hz, e 2477.644 Hz, respetivamente, e mínimos nas frequências de 89.0419 Hz e 148.5308 Hz, e 148.5308 Hz, respetivamente. As frequências nos pontos máximos e mínimos encontrados são diferentes das frequências obtidas para o sensor sem revestimento sensorial.

#### 4.3.5 Análise de sensor revestido com (PEI/GO)<sub>10</sub> em soluções aquosas complexas de triclosan

Na figura 4.36 podem observar-se as diferentes características elétricas do sensor revestido com um filme fino com dez bicamadas de PEI e GO, (PEI/GO)<sub>10</sub>, em função da frequência, na presença de diferentes concentrações de TCS em água da torneira.





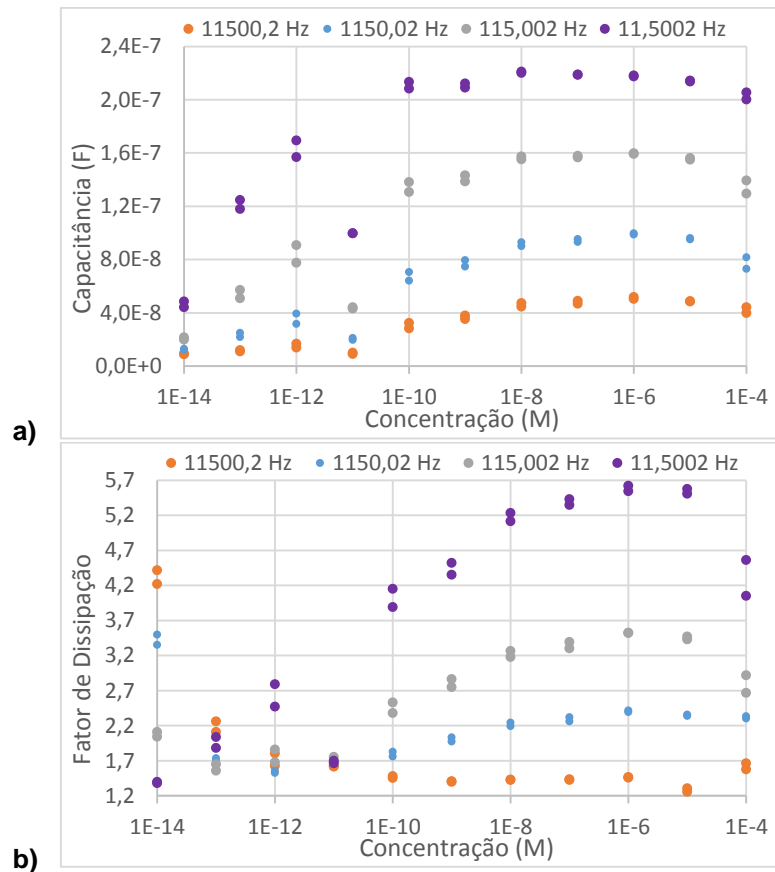
**Figura 4.36** Espectros de a) impedância, b) ângulo de fase, c) capacitância e d) fator de dissipação em função da frequência, obtidos para o sensor revestido com (PEI/GO)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. As regiões inseridas nos gráficos dos espectros corresponderam ao intervalo de frequências entre 10<sup>3</sup> e 10<sup>5</sup> Hz.

Nos gráficos da figura 4.36 estão representados os espectros de impedância, ângulo de fase, capacitância e fator de dissipação do sensor revestido com um filme fino de (PEI/GO)<sub>10</sub>. Analisando os espectros da impedância e da capacitância, é possível distinguir as curvas correspondentes a todas concentrações de TCS presente, no intervalo de frequências entre 10<sup>3</sup> e 10<sup>4</sup> Hz, podendo estabelecer-se um padrão que nos permite quantificar o TCS presente na solução. Para o intervalo de frequências mencionado, quanto maior a concentração de TCS presente, menores os valores de impedância e maiores os valores de capacitância medidos.

Analisando os espectros de ângulo de fase e fator de dissipação, nos intervalos de frequências entre 10 e 10<sup>2</sup> Hz e 10<sup>4</sup> e 10<sup>5</sup> Hz, é também possível fazer a distinção das curvas correspondentes a todas as concentrações de TCS, que são bem discerníveis e permitem detectar e quantificar o TCS presente na solução. Para frequências inferiores a 10<sup>2</sup> Hz, quanto maior a concentração de TCS, menores os valores de ângulo de fase e maiores os valores de fator de dissipação medidos. Para frequências superiores a 10<sup>2</sup> Hz, quanto maior a concentração de TCS, maiores os valores de ângulo de fase e menores os valores de fator de dissipação medidos. Este comportamento tem sido o comportamento elétrico padrão para os sensores que demonstraram um bom funcionamento da detecção e quantificação do TCS presente. Nos espectros, tal como verificado para água ultrapura, é possível identificar claramente as curvas correspondentes às concentrações menores de TCS, incluindo as curvas de água da torneira e entre 10<sup>-13</sup> e 10<sup>-10</sup> M, verificando-se então uma maior sensibilidade do sensor para as concentrações menores de TCS.

Similarmente aos sensores com diferentes revestimentos testados e analisados nas subseções anteriores, a curva correspondente à concentração de 10<sup>-4</sup> M apresenta um comportamento que a distingue das restantes em termos de maior número de picos máximos e mínimos, e muito diferente do observado para as curvas de outras concentrações próximas, comportamento que pode dever-se à saturação do sensor, indicando que estes filmes não são adequados para a detecção de concentrações maiores de TCS, apenas concentrações inferiores.

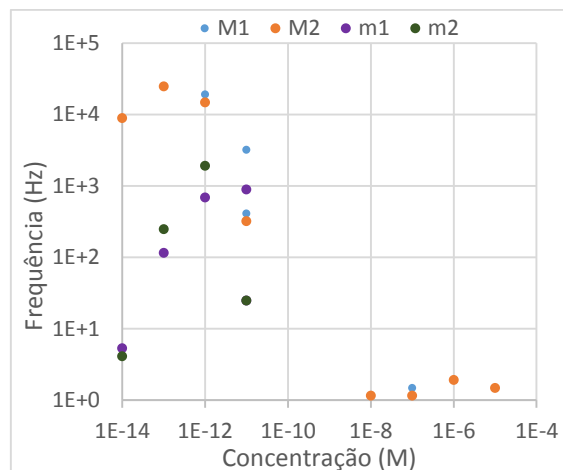
Comparando os sensores, verifica-se uma significativa melhoria do sensor revestido com (PEI/GO)<sub>10</sub> relativamente aos resultados obtidos para o sensor sem revestimento em água da torneira e uma ligeira melhoria relativamente aos resultados obtidos quando este sensor foi testado em água ultrapura. Conclui-se que o sensor revestido com (PEI/GO)<sub>10</sub> apresenta um bom desempenho na detecção e quantificação de concentrações de TCS em meio aquoso, podendo ser usado como referência para reprodutibilidade de um método fiável para o objetivo proposto.



**Figura 4.37 A) Capacitância e b) Fator de dissipação a diferentes frequências em função da concentração de TCS, obtidos para o sensor revestido com (PEI/GO)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS.**

Analisando o comportamento elétrico do sensor para quatro valores de frequência fixa escolhidos, entre  $10^4$  Hz, na figura 4.37, verifica-se um aumento dos valores de capacitância com o aumento da concentração de TCS, seguido de um decréscimo para as concentrações de  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  M. Analisando o espectro de fator de dissipação, é possível verificar um aumento acentuado dos valores do fator de dissipação com o aumento da concentração de TCS, seguido de um decréscimo para as concentrações de  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  M para as frequências menores.

Os resultados obtidos para o sensor revestido com (PEI/GO)<sub>10</sub> em água da torneira são semelhantes aos obtidos para este sensor quando testado em água ultrapura, e aos obtidos para o sensor sem revestimento sensorial testado em água da torneira. Comparativamente ao sensor sem revestimento sensorial, o sensor revestido com (PEI/GO)<sub>10</sub> apresenta um melhor desempenho e valores de capacitância e fator de dissipação semelhantes aos obtidos para o sensor sem revestimento.



**Figura 4.38** Frequência dos máximos e dos mínimos do espectro de fator de dissipação em função da concentração de TCS, obtido para o sensor revestido com (PEI/GO)<sub>10</sub>, imerso em amostras de água da torneira com diferentes concentrações de TCS. M1 e M2 representam os pontos máximos de fator de dissipação, e m1 e m2 os pontos mínimos.

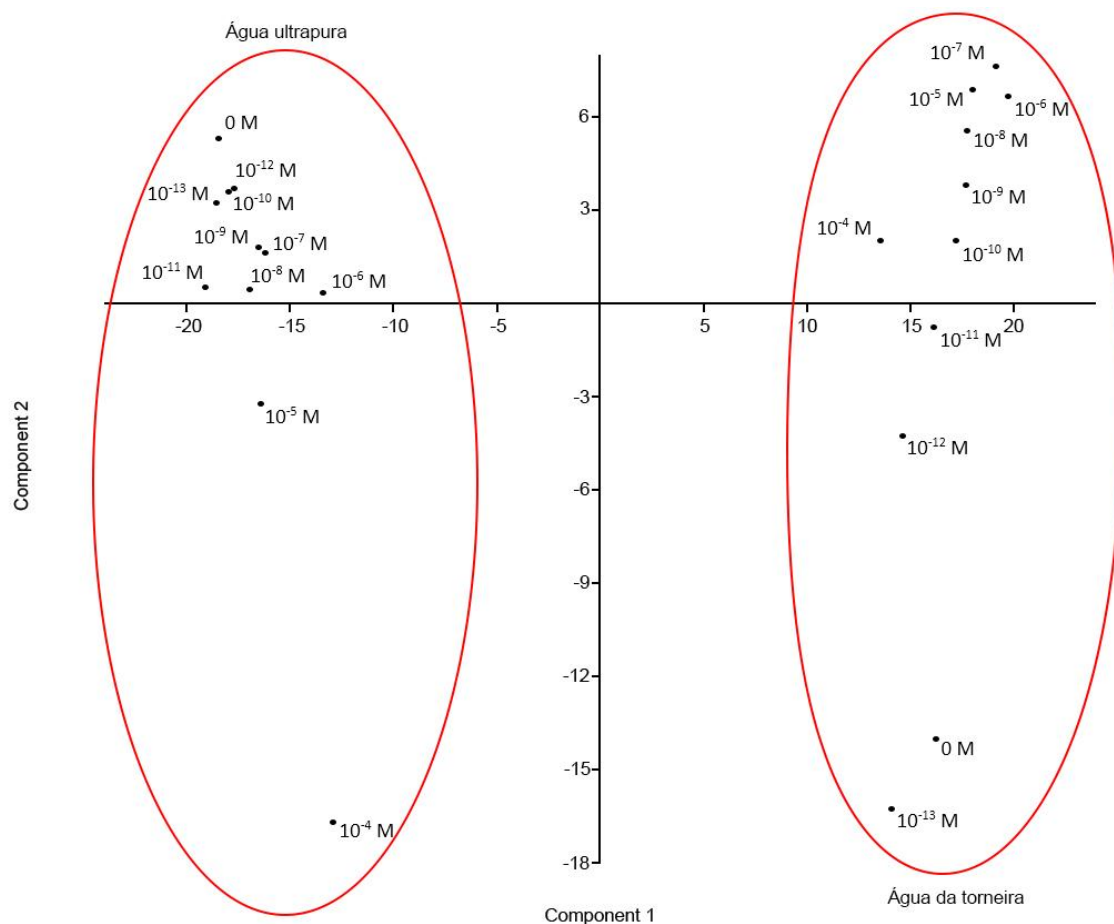
Finalmente, estudou-se a variação dos valores de frequência para cada concentração de TCS nos pontos máximos e mínimos das curvas do gráfico de fator de dissipação em função da frequência. Na figura 4.38 é possível observar que os pontos máximos e mínimos se encontram espaçados mais do que uma ordem de grandeza e existem apenas para as concentrações mais pequenas de TCS. Quando analisados os espectros de fator de dissipação em função da frequência para ambos os sensores, é possível observar que as concentrações menores apresentam um maior número de mínimos e máximos que as concentrações maiores de TCS, ao contrário do que tinha sido observado para os outros sensores e para o sensor revestido com (PEI/GO)<sub>10</sub> quando testado em água ultrapura.

## 4.4 Aplicação de PCA para diferenciação de concentrações de triclosan em meios aquosos

Com o intuito de se distinguir as diferentes concentrações de TCS, isto é, aplicar o conceito de Língua Eletrônica, utilizou-se o método de Análise de Componentes Principais (PCA) para analisar os dados obtidos para os diferentes filmes usados. O método de PCA foi aplicado aos dados do fator de dissipação, uma vez que foram os gráficos que melhor permitiram fazer a distinção das diferentes concentrações de TCS presentes nas soluções testadas.

### 4.4.1 Água ultrapura e água da torneira

Para se verificar que a Língua Eletrônica considerada consegue distinguir as diferentes matrizes aquosas e também discriminar de uma maneira geral as concentrações de TCS, começou-se por se aplicar o método de PCA aos espectros de fator de dissipação medidos em todos os sensores considerando-se toda a gama de frequências.



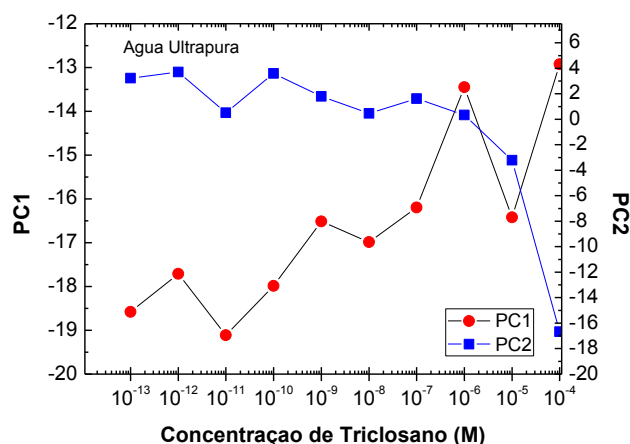
**Figura 4.39 - Representação das componentes principais PC1 e PC2 obtidas pelo método de PCA a partir dos espectros de fator de dissipação em função da frequência dos sensores revestidos por filmes finos LBL em água ultrapura e em água da torneira para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M, que em conjunto explicam 74,30% da variância total dos dados**

A figura 4.39 mostra o gráfico da evolução dos valores das componentes principais PC1 e PC2 obtidas pelo método de PCA a partir dos espectros de fator de dissipação dos sensores revestidos por filmes finos LBL em água ultrapura e em água da torneira para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M, que em conjunto explicam 74,30% da variância total dos dados. Embora não seja possível verificar uma relação linear entre as componentes PC1 e PC2 com a concentração de TCS presente, podemos observar claramente a distinção entre solução aquosa com água ultrapura ou com água da torneira. Nos quadrantes 1 e 3 podemos observar a presença de diferentes concentrações de TCS em água ultrapura, que vão desde as concentrações menores no quadrante 1 até às concentrações mais altas no quadrante 3. Nos quadrantes 2 e 4 podemos observar a presença de diferentes concentrações de TCS em água da torneira, que vão desde as concentrações menores no quadrante 4 até às concentrações mais altas no quadrante 2.

Após esta análise, aplicou-se o método de PCA individualmente aos dados medidos em água ultrapura e aos dados medidos em água da torneira, para procurar obter uma melhor observação da relação entre as componentes principais PC1 e PC2 e a concentração de TCS presente.

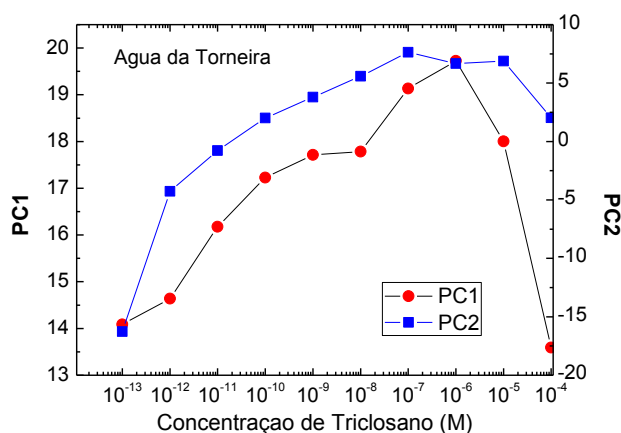
Na construção dos gráficos das componentes principais PC1 e PC2 em função da concentração de TCS, aplicou-se a escala logarítmica aos valores de concentração e usou-se o intervalo completo de frequências, para extrair o máximo de informação possível da resposta elétrica dos sensores às soluções com diferentes concentrações de TCS, obtendo-se o gráfico da figura 4.40 para a água ultrapura e o gráfico da figura 4.41 para a água da torneira.





**Figura 4.40 – Representação das componentes principais PC1 e PC2 em água ultrapura para as concentrações de 10<sup>-13</sup> M a 10<sup>-4</sup> M.**

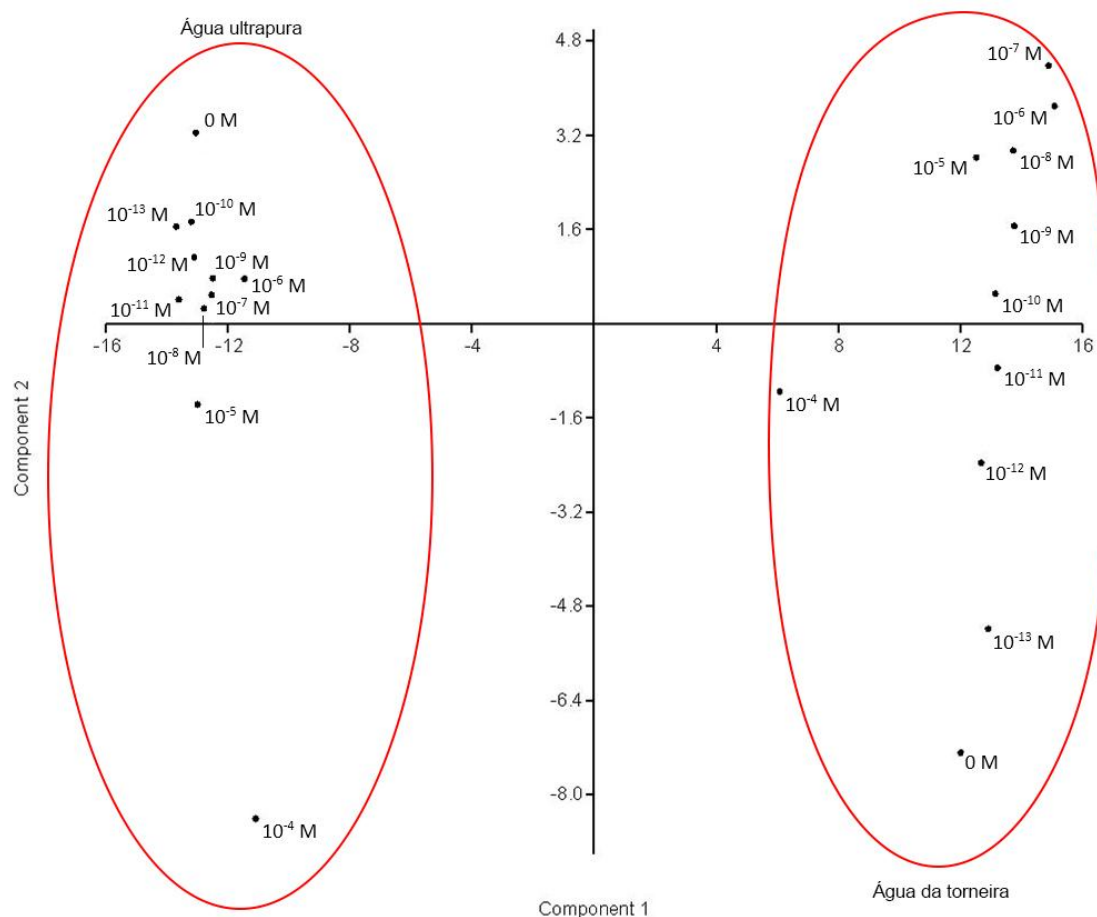
A figura 4.40 mostra a evolução dos valores das componentes principais PC1 e PC2 em água ultrapura para as concentrações de 10<sup>-13</sup> M a 10<sup>-4</sup> M. As componentes principais presentes neste gráfico, PC1 e PC2, mostram uma dependência com a concentração de TCS presente nas soluções. A componente PC1 aumenta com o aumento da concentração de TCS e a componente PC2 diminui com o aumento da concentração de TCS, apresentando uma queda mais acentuada para as concentrações de 10<sup>-5</sup> M e 10<sup>-4</sup> M, que pode ser explicada pela saturação do sensor.



**Figura 4.41 - Representação das componentes principais PC1 e PC2 em água da torneira para as concentrações de 10<sup>-13</sup> M a 10<sup>-4</sup> M.**

A figura 4.41 mostra a evolução dos valores das componentes principais PC1 e PC2 em água da torneira para as concentrações de 10<sup>-13</sup> M a 10<sup>-4</sup> M. Ambas as componentes principais presentes neste gráfico, PC1 e PC2, mostram uma dependência com a concentração de TCS presente nas soluções. A componente PC1 aumenta com o aumento da concentração de TCS, sofrendo uma queda abrupta para as concentrações de 10<sup>-5</sup> M e 10<sup>-4</sup> M, a componente PC2 aumenta com o aumento da concentração de TCS, voltando a diminuir para as concentrações maiores, de 10<sup>-6</sup> M a 10<sup>-4</sup> M. Ambas as quedas podem ser explicadas como uma saturação do sensor.

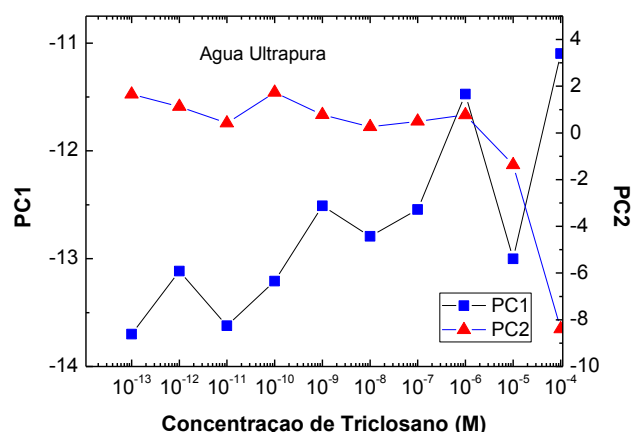
O passo seguinte foi reduzir-se o intervalo de frequências dos dados utilizados dos espectros de fator de dissipação, para tentar obter uma melhor distinção de concentrações de TCS no gráfico de PCA, a partir da resposta elétrica dos sensores em água ultrapura e em água da torneira, como pode ser observado na figura 4.42. O intervalo de frequências foi reduzido de 10<sup>-1</sup> Hz a 10<sup>8</sup> Hz para 10<sup>1</sup> Hz a 10<sup>5</sup> Hz, uma vez que foi neste intervalo que se obteve a melhor resposta da parte dos sensores para a detecção de diferentes concentrações de TCS em solução aquosa.



**Figura 4.42 - Representação das componentes principais PC1 e PC2 em água ultrapura e água da torneira para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M, para o intervalo de frequências entre 10 Hz e  $10^5$  Hz, que em conjunto explicam 91,89% da variância total dos dados**

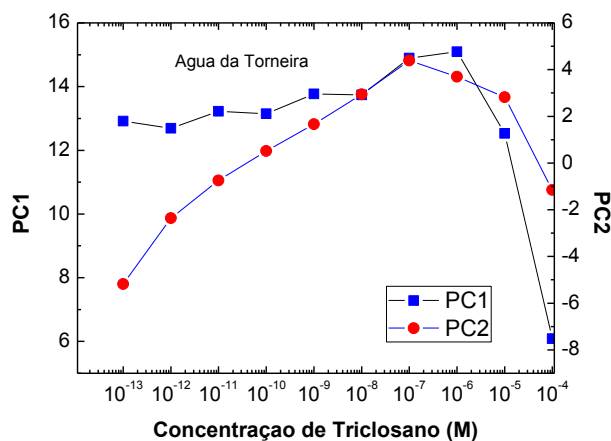
A figura 4.42 mostra a evolução dos valores das componentes principais PC1 e PC2 em água ultrapura e em água da torneira para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M, que em conjunto explicam 91,89% da variância total dos dados, uma melhoria relativamente aos 74,30% verificados na figura 4.39. O gráfico apresentado na figura 4.41, tal como o gráfico apresentado na figura 4.39, permite-nos fazer a distinção entre soluções com água ultrapura e soluções com água da torneira através da componente principal PC2. Para valores de PC2 negativos, trata-se de solução com água ultrapura e para valores positivos de PC2, trata-se de solução com água da torneira. Neste gráfico podemos ainda observar melhorias na evolução dos valores da componente principal PC1 em função da concentração de TCS, principalmente para a água da torneira, uma vez que é possível observar uma relação linear entre a componente PC1 e a concentração de TCS presente. Nos quadrantes 1 e 3 podemos observar a presença de diferentes concentrações de TCS em água ultrapura, que vão desde as concentrações menores no quadrante 1 até às concentrações mais altas no quadrante 3. Nos quadrantes 2 e 4 podemos observar a presença de diferentes concentrações de TCS em água da torneira, que vão desde as concentrações menores no quadrante 4 até às concentrações mais altas no quadrante 2.

Após esta análise, aplicou-se o método de PCA individualmente aos dados medidos em água ultrapura e aos dados medidos em água da torneira, para procurar obter uma melhor observação da relação entre as componentes principais PC1 e PC2 e a concentração de TCS presente. Na construção de gráficos com as componentes principais PC1 e PC2 em função da concentração de TCS, aplicou-se a escala logarítmica aos valores de concentração e reduziu-se o intervalo de frequências para  $10^1$  Hz a  $10^5$  Hz, para extrair o máximo de informação possível da resposta elétrica dos sensores às soluções com diferentes concentrações de TCS, obtendo-se o gráfico da figura 4.43 para a água ultrapura e o gráfico da figura 4.44 para a água da torneira.



**Figura 4.43 - Representação das componentes principais PC1 e PC2 em água ultrapura para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M, para o intervalo de frequências entre  $10^1$  Hz e  $10^5$  Hz**

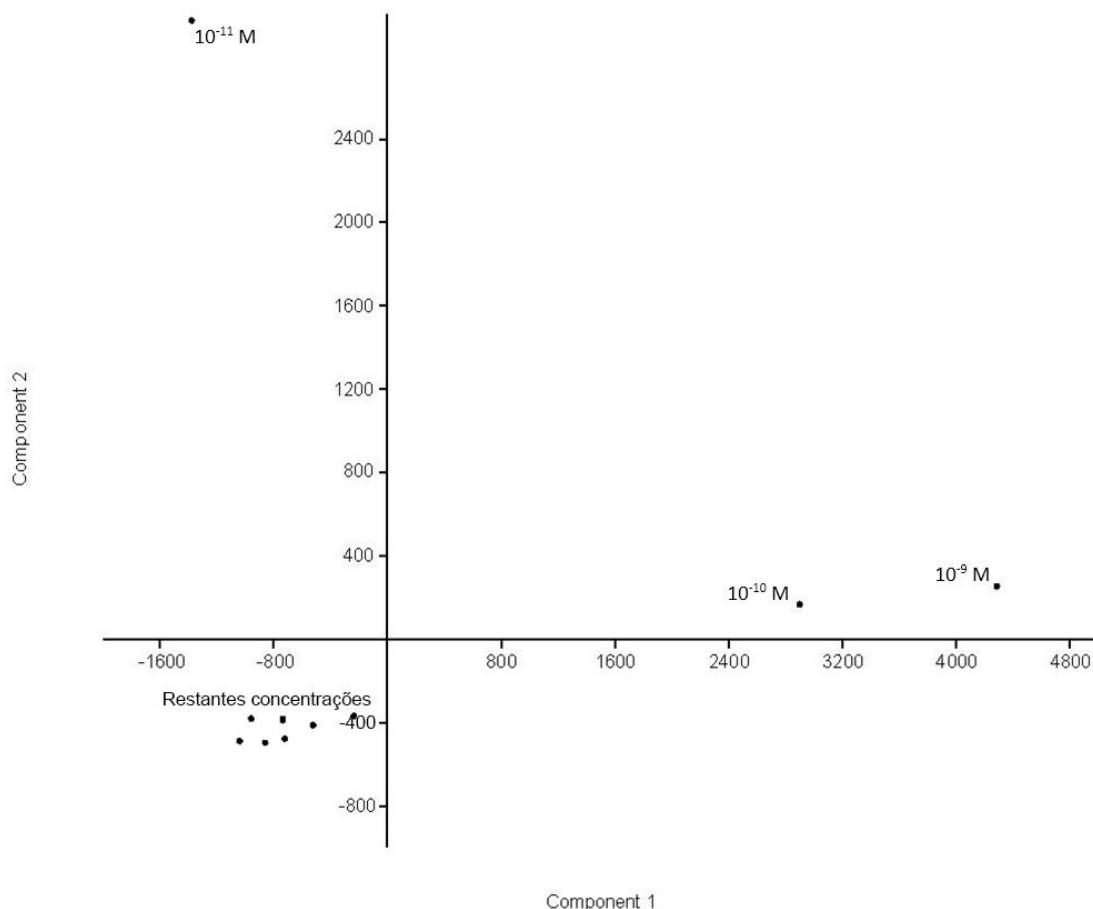
A figura 4.43 mostra a evolução dos valores das componentes principais PC1 e PC2 em água ultrapura para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M, para o intervalo de frequências entre  $10^1$  Hz e  $10^5$  Hz. Comparando com os resultados obtidos no gráfico apresentado na figura 4.40, as componentes principais PC1 e PC2, mostram uma dependência com a concentração de TCS semelhante à observada para o intervalo completo de frequências entre  $10^{-1}$  Hz e  $10^8$  Hz. A componente PC1 aumenta com o aumento da concentração de TCS e a componente PC2 diminui com o aumento da concentração de TCS, apresentando uma queda mais acentuada para as concentrações de  $10^{-5}$  M e  $10^{-4}$  M, que pode ser explicada como uma saturação do sensor.



**Figura 4.44 - Representação das componentes principais PC1 e PC2 em água da torneira para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M, para o intervalo de frequências entre  $10^1$  Hz e  $10^5$  Hz**

A figura 4.44 mostra a evolução dos valores das componentes principais PC1 e PC2 em água da torneira para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M, para o intervalo de frequências entre  $10^1$  Hz e  $10^5$  Hz. Comparando com os resultados obtidos no gráfico apresentado na figura 4.41, as componentes principais PC1 e PC2 mostram uma dependência com a concentração de TCS semelhante à observada para o intervalo completo de frequências. A componente PC1 aumenta com o aumento da concentração de TCS, sofrendo uma queda abrupta para as concentrações de  $10^{-5}$  M e  $10^{-4}$  M, a componente PC2 aumenta com o aumento da concentração de TCS, até à concentração de  $10^{-7}$  M, diminuindo para as concentrações de  $10^{-6}$  M a  $10^{-4}$  M.

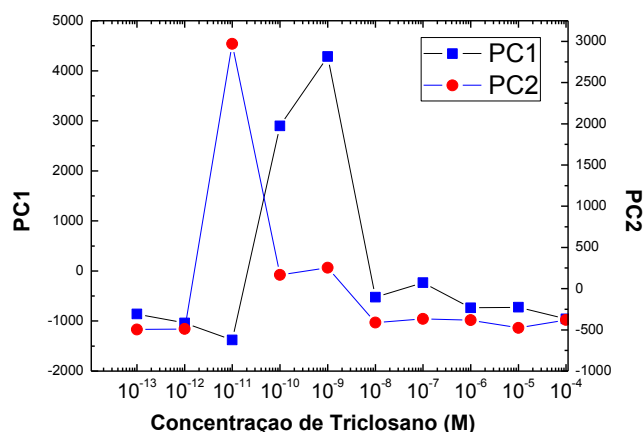
#### 4.4.2 Água ultrapura



**Figura 4.45 - Representação das componentes principais PC1 e PC2 em água ultrapura para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M, que em conjunto explicam 99,96% da variância total dos dados**

A figura 4.45 mostra a evolução dos valores das componentes principais PC1 e PC2 em água ultrapura para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M, que em conjunto explicam 99,96% da variância total dos dados. Neste gráfico verifica-se que apesar de as duas componentes PC1 e PC2 explicarem em conjunto quase a totalidade da variância total dos dados, este gráfico não permite identificar nenhum padrão que as relacione com a concentração de TCS presente. Apenas é possível observar que todas as concentrações de TCS em água ultrapura estão representadas no 3º quadrante do gráfico, à exceção das concentrações de  $10^{-11}$  M,  $10^{-10}$  M representadas no 2º quadrante e de  $10^{-9}$  M no 1º quadrante.

Após esta análise, aplicou-se o método de PCA aos dados medidos em água ultrapura, para procurar obter uma melhor observação da relação entre as componentes principais PC1 e PC2 e a concentração de TCS presente. Na construção do gráfico das componentes principais PC1 e PC2 em função da concentração de TCS, aplicou-se a escala logarítmica aos valores de concentração e usou-se o intervalo completo de frequências, para extrair o máximo de informação possível da resposta elétrica dos sensores às soluções com diferentes concentrações de TCS, obtendo-se o gráfico da figura 4.46.



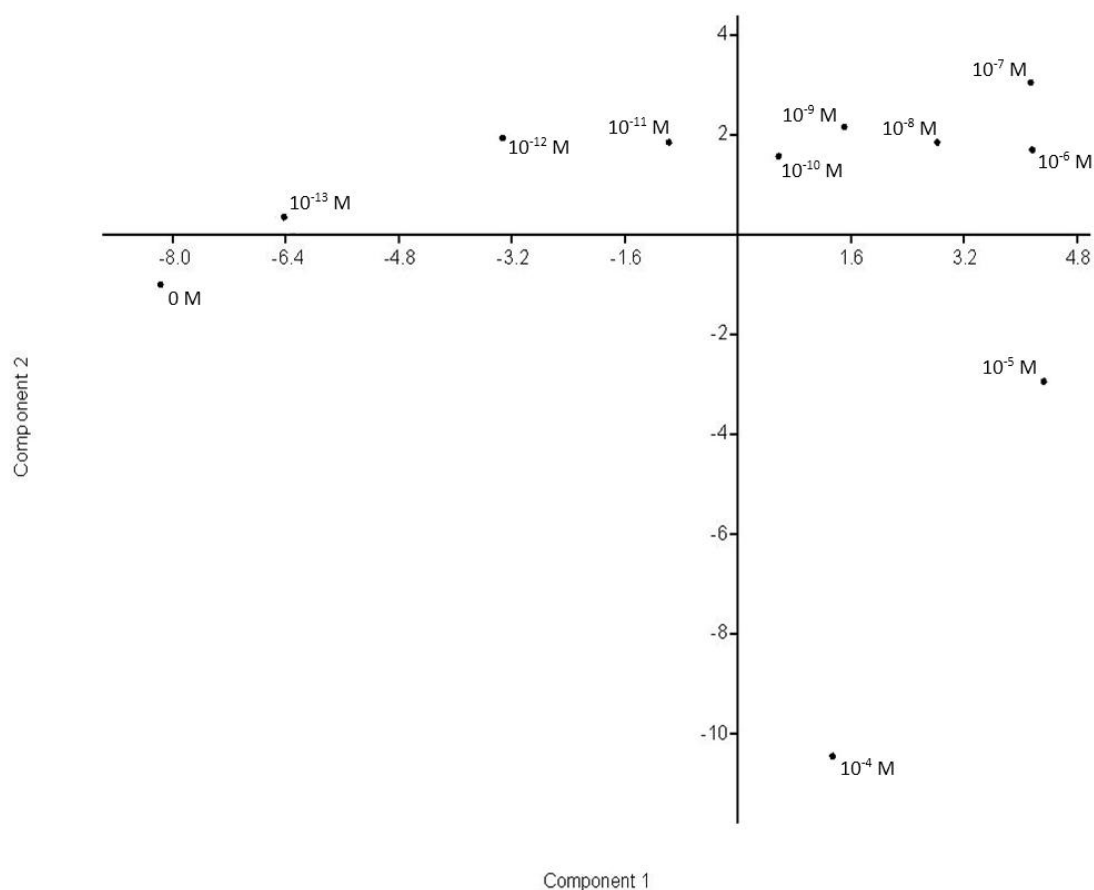
**Figura 4.46 – Representação das componentes principais PC1 e PC2 em água ultrapura para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M.**

A figura 4.46 mostra a evolução dos valores das componentes principais PC1 e PC2 em água ultrapura para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M. Para a componente principal PC1 é possível observar um pico para a concentração de  $10^{-11}$  M e observam-se valores constantes em função da concentração de TCS para as concentrações de  $10^{-8}$  M a  $10^{-4}$  M. Para a componente principal PC2 é possível observar um pico para a concentração de  $10^{-9}$  M e observam-se valores constantes em função da concentração de TCS para as concentrações de  $10^{-8}$  M a  $10^{-4}$  M.

#### 4.4.3 Água da torneira

Tal como para a água ultrapura, começou por se fazer um gráfico que mostrasse a evolução dos valores das componentes principais PC1 e PC2 em água da torneira para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M. No entanto, neste caso, embora as componentes principais PC1 e PC2 em água da torneira em conjunto expliquem 98,41% da variância total dos dados, não foi possível obter um gráfico que nos permita observar qualquer relação entre as componentes principais PC1 e PC2 com a concentração de TCS presente em solução.

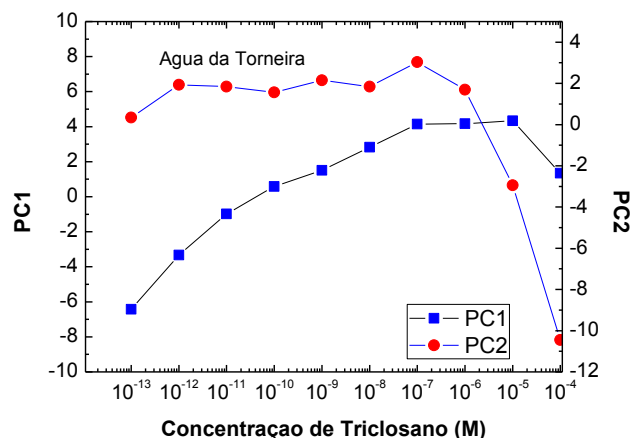
De modo a tentar obter uma melhor distinção de concentrações de TCS no gráfico de PCA a partir da resposta elétrica dos sensores em água da torneira, reduziu-se o intervalo de frequências entre  $10^{-1}$  Hz a  $10^8$  Hz para  $10^1$  Hz a  $10^5$  Hz, para o gráfico das componentes principais, uma vez que foi neste intervalo que se obteve a melhor resposta da parte dos sensores para a deteção de diferentes concentrações de TCS. Este gráfico pode ser observado na figura 4.47.



**Figura 4.47 - Representação das componentes principais PC1 e PC2 em água da torneira para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M, para o intervalo de frequências entre  $10^1$  Hz e  $10^5$  Hz, que em conjunto explicam 87,66% da variância total dos dados**

A figura 4.47 mostra a evolução dos valores das componentes principais PC1 e PC2 em água da torneira para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M, para o intervalo de frequências entre  $10^1$  Hz e  $10^5$  Hz, que em conjunto explicam 87,66% da variância total dos dados. Apesar de as duas componentes explicarem em conjunto 87,66% da variância total dos dados, não se identifica nenhum padrão que as relacione com a concentração de triclosan. Apenas é possível observar que as concentrações de TCS em água da torneira estão representadas nos quatro quadrantes do gráfico, fazendo um semicírculo.

Após esta análise, aplicou-se o método de PCA aos dados medidos em água da torneira, para procurar obter uma melhor observação da relação entre as componentes principais PC1 e PC2 e a concentração de TCS presente. Na construção do gráfico das componentes principais PC1 e PC2 em função da concentração de TCS, aplicou-se a escala logarítmica aos valores de concentração e reduziu-se o intervalo de frequências para  $10^1$  Hz a  $10^5$  Hz, para extrair o máximo de informação possível da resposta elétrica dos sensores às soluções com diferentes concentrações de TCS, obtendo-se o gráfico da figura 4.48.



**Figura 4.48 - Representação das componentes PC1 e PC2 em água da torneira para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M, para o intervalo de frequências entre  $10^1$  Hz e  $10^5$  Hz**

A figura 4.48 mostra a evolução dos valores das componentes principais PC1 e PC2 em água da torneira para as concentrações de  $10^{-13}$  M a  $10^{-4}$  M, para o intervalo de frequências entre  $10^1$  Hz e  $10^5$  Hz. Ambas as componentes principais presentes neste gráfico, PC1 e PC2, mostram uma dependência com a concentração de TCS presente nas soluções. A componente PC1 aumenta com o aumento da concentração de TCS, diminuindo para a concentração de  $10^{-4}$  M, a componente PC2 aumenta com o aumento da concentração de TCS, sofrendo uma queda abrupta para as concentrações de  $10^{-6}$  M a  $10^{-4}$  M. Deste gráfico podemos concluir que a componente PC1 é útil para a detecção de concentrações de TCS entre  $10^{-13}$  M e  $10^{-7}$  M e que a componente principal PC2 é útil para a detecção de concentrações de TCS entre  $10^{-7}$  M e  $10^{-4}$  M.





## Capítulo 5 - Conclusão e Perspectivas Futuras



### 5.1 Conclusão

Este trabalho abordou o desenvolvimento de sensores para detecção de TCS em meio aquoso simples e complexo. Com esse objetivo foram produzidas soluções de água ultrapura e água da torneira com concentrações de TCS entre  $10^{-13}M$  e  $10^{-4}M$  e selecionados sensores de vidro com eletrodos interdigitados de ouro, que foram revestidos por filmes finos produzidos através da técnica de LBL,  $(PAH/GO)_{10}$ ,  $(PAH/DNA)_{10}$ ,  $(PAH/DNA+GNPs)_{10}$ ,  $(PEI/DNA)_{10}$  e  $(PEI/GO)_{10}$ , cujo comportamento elétrico e caracterização foram feitos com recurso à técnica de espectroscopia de impedância.

Para cada um dos sensores produzidos, analisaram-se os espectros de impedância, ângulo de fase, capacitância e fator de dissipação em função da frequência. Estudaram-se os espectros de capacitância e de fator de dissipação em função da concentração de TCS para quatro frequências fixas escolhidas e também a que frequências correspondem os pontos máximos e mínimos. Por fim, recorreu-se ao método de PCA para verificar a evolução do comportamento elétrico do sensor com a concentração de TCS presente.

A análise do comportamento elétrico do sensor sem revestimento sensorial em água ultrapura e em água da torneira, permitiu atestar o funcionamento dos sensores adquiridos em meio aquoso. A análise do comportamento do sensor em soluções aquosas com diferentes concentrações de TCS permitiu estudar o comportamento deste na presença de TCS. Este estudo indicou que o sensor sem revestimento apenas é eficiente na detecção de concentrações maiores de TCS,  $10^{-5}M$  e  $10^{-4}M$ , e que para frequências inferiores a 100 Hz, apresenta um comportamento muito irregular, não devendo os resultados obtidos para estas frequências ser considerados.

Ao analisar os espectros obtidos em função da frequência, para os sensores revestidos com  $(PAH/GO)_{10}$ ,  $(PAH/DNA)_{10}$ ,  $(PAH/DNA+GNPs)_{10}$ ,  $(PEI/DNA)_{10}$  e  $(PEI/GO)_{10}$ , em água ultrapura, foi possível verificar que embora se consiga discernir a maioria das curvas correspondentes às diferentes concentrações de TCS, estas ou são difíceis de distinguir entre si ou não permitem estabelecer um padrão que explique o comportamento elétrico do sensor em função da concentração de TCS presente. No entanto, relativamente aos resultados obtidos para o sensor sem revestimento sensorial, os sensores com revestimentos verificaram-se mais sensíveis na determinação de TCS. Os sensores revestidos com  $(PAH/DNA+GNPs)_{10}$  e  $(PEI/DNA)_{10}$  foram aqueles que apresentaram melhores resultados, uma vez que permitiram fazer a distinção de todas as curvas correspondentes a diferentes concentrações de TCS.

Ao analisar os espectros obtidos em função da frequência, para os sensores revestidos com  $(PAH/GO)_{10}$ ,  $(PAH/DNA)_{10}$ ,  $(PAH/DNA+GNPs)_{10}$ ,  $(PEI/DNA)_{10}$  e  $(PEI/GO)_{10}$ , em água da torneira, foi possível observar uma melhoria significativa no potencial quantitativo destes sensores relativamente aos resultados obtidos para os mesmos sensores quando testados em água ultrapura. Esta melhoria, ou aumento de sensibilidade na determinação de TCS, pode ser explicada pelo aumento de condutividade no meio aquoso. Os espectros obtidos em função da frequência em água da torneira, permitiram não só distinguir as curvas correspondentes a todas as concentrações de TCS presentes, como estas se encontram bem definidas. Foi também possível observar que as curvas correspondentes às concentrações de  $10^{-6}M$  a  $10^{-4}M$  apresentam um comportamento muito diferente comparativamente ao observado para curvas de outras concentrações próximas, que pode ser explicado pela saturação do sensor.

Conclui-se assim que todos os sensores com diferentes revestimentos sensoriais testados, nomeadamente (PAH/GO)<sub>10</sub>, (PAH/DNA)<sub>10</sub>, (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub>, (PEI/DNA)<sub>10</sub> e (PEI/GO)<sub>10</sub>, são eficientes na determinação de TCS em meio aquoso, podendo ser usados como referência futura na reprodutibilidade de um método fiável para o objetivo proposto.

A análise geral aos espectros permitiu ainda tirar outras conclusões. Concluiu-se que os resultados obtidos para soluções produzidas com água da torneira foram no geral significativamente melhores às produzidas com água ultrapura, devido ao aumento de condutividade da água da torneira. Concluiu-se que o intervalo de frequências entre 10<sup>1</sup> Hz e 10<sup>5</sup> Hz e que os espectros de ângulo de fase e de fator de dissipação em função da frequência, são os indicados para o estudo do comportamento elétrico destes sensores, uma vez que foi nestas condições que se conseguiram observar os melhores resultados possíveis para todos os sensores testados. No intervalo de frequências entre 10<sup>1</sup> Hz e 10<sup>5</sup> Hz foi ainda possível verificar um padrão no comportamento dos sensores, em que com o aumento da concentração de TCS, os valores de impedância e ângulo de fase aumentam e os valores de capacitância e fator de dissipação diminuem. Para outros intervalos de frequências, observa-se o comportamento inverso.

Quando analisados os espectros de capacitância e fator de dissipação em função da concentração de TCS, foi possível observar que os valores variam significativamente consoante a ordem de grandeza de frequência escolhida, mas que, independentemente da concentração de TCS presente, os valores de capacitância e fator de dissipação em função da frequência, tendem a ser superiores em sensores que apresentaram melhores resultados na deteção de TCS do que naqueles em que os resultados não foram tão bons.

A análise dos diferentes pares de sensores revestidos permitiu aferir que a presença de revestimento não é o único requisito para o bom desempenho do sensor, sendo importante usar uma técnica que permita replicar os filmes finos construídos. No decorrer do método experimental e posterior análise, verificam-se pequenas diferenças no comportamento elétrico de cada par de sensores analisado, que podem dever-se ao facto de, apesar de ter sido usada a mesma técnica de deposição LBL para todos os pares de sensores, estes não ficam exatamente iguais.

Ao aplicar o método de PCA e se ter feito uma análise estatística conjunta dos resultados experimentais, para extrair mais informações sobre a resposta elétrica dos sensores às diferentes soluções produzidas, foi possível concluir que a representação da componente principal PC1 em função da componente PC2 não nos fornece informação relativamente à concentração de TCS presente, no entanto, permite distinguir as soluções produzidas com água ultrapura (quadrante 1 e 3) das produzidas com água da torneira (quadrante 2 e 4).

Nos gráficos das componentes principais PC1 e PC2 em função da concentração de TCS, observaram-se melhores resultados para as soluções com água da torneira. Para água ultrapura, a componente PC1 aumenta com o aumento da concentração de TCS presente, mas trata-se de um crescimento irregular, e a componente PC2 mantém-se aproximadamente constante para as concentrações menores de TCS, apresentando uma queda para as concentrações entre 10<sup>-6</sup> M e 10<sup>-4</sup> M. Estes sensores em água ultrapura não são então muito eficientes na deteção das concentrações de TCS que se pretenderam medir, de 10<sup>-13</sup> M a 10<sup>-9</sup> M. Para água da torneira, por outro lado, foi possível observar uma dependência entre as componentes PC1 e PC2 e a concentração de TCS presente. Observou-se um crescimento dos valores de PC1 e PC2 com o aumento da concentração de TCS, sofrendo uma queda abrupta para as concentrações maiores, entre 10<sup>-6</sup> M e 10<sup>-4</sup> M, que pode ser explicada como uma saturação do sensor. Conclui-se através do uso do método PCA que, os sensores produzidos são eficientes na deteção de diferentes concentrações de TCS, entre 10<sup>-13</sup> M a 10<sup>-9</sup> M, em meio aquoso complexo.

Em suma, após a utilização de diferentes técnicas de análise de resultados, conclui-se que os sensores revestidos com os filmes finos (PAH/GO)<sub>10</sub>, (PAH/DNA)<sub>10</sub>, (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub>, (PEI/DNA)<sub>10</sub> e (PEI/GO)<sub>10</sub>, produzidos pela técnica LBL funcionam como um método sensível e eficiente para determinação de pequenas concentrações de TCS em meio aquoso, concluindo-se que o objetivo proposto nesta dissertação foi atingido.

## 5.2. Perspetivas futuras

Como pesquisa futura, tendo em conta o progresso observado nos resultados obtidos para o sensor revestido com (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub> comparativamente com o sensor com (PAH/DNA)<sub>10</sub>, na determinação de TCS em meio aquoso, poderá estudar-se a eficiência de um sensor revestido com (PEI/DNA+GNPs)<sub>10</sub> para verificar se também este apresenta resultados melhores relativamente ao seu predecessor, (PEI/DNA)<sub>10</sub>. Poderá também analisar-se o comportamento elétrico de sensores revestidos com (PEI/GO)<sub>10</sub> usando uma camada aniónica mais concentrada ou de sensores revestidos com (PAH/DNA+GNPs)<sub>10</sub> com uma concentração maior de GNPs.

Poderá estudar-se o comportamento elétrico do mesmo tipo de sensores com eléctrodos interdigitados, mas com revestimentos construídos a partir de outras técnicas de deposição, como *sputtering* (pulverização catódica), *spin-coating*, eletroquímica ou Langmuir-Blodgett. Poderá ainda aplicar-se a mesma metodologia experimental utilizada neste trabalho na detecção de derivados de TCS, produzidos a partir da fototransformação e degradação do TCS. É importante detetar a presença de derivados do TCS em meio complexo, como clorofenóis e dioxinas produzidos por fotodegradação, uma vez que o método sensível comumente usado, a quimiluminescência, não é eficiente na detecção de derivados de TCS sem propriedades de quimiluminescência [3].



## Referências

- [1] Chen, M., Liu, Y., Lin, C., Ponnusamy, V. K., & Jen, J. (2013). Rapid determination of triclosan in personal care products using new in-tube based ultrasound-assisted salt-induced liquid-liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography-ultraviolet detection. *Analytica Chimica Acta*, 767, 81–87. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2013.01.014>
- [2] Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCP). U.S. Environmental Protection Agency. 2012. <http://www.epa.gov/ppcp/> (consultado a 22 de Fevereiro de 2019)
- [3] Song, S., Song, Q. J., & Chen, Z. (2007). Online phototransformation–flow injection chemiluminescence determination of triclosan. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387(8), 2917–2922. <http://doi.org/10.1007/s00216-007-1130-5>
- [4] Guia de Comparação do produto: Triclosan. Merck. <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/triclosan28954338034511> (consultado a 20 de Junho de 2019)
- [5] Dhillon, G. S., Kaur, S., Pulicharla, R., Brar, S. K., Cledón, M., Verma, M., & Surampalli, R. Y. (2015). Triclosan: Current Status, Occurrence, Environmental Risks and Bioaccumulation Potential. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(5), 5657–5684. <https://doi.org/10.3390/ijerph120505657>
- [6] Ricart, M., Guasch, H., Alberch, M., Barceló, D., Bonnineau, C., Geiszinger, A., Farré, M., Ferrer, J., Ricciardi, F., Romaní, A. M., Morin, S., Proia, L., Sala, L., Sureda, D., & Sabater, S. (2010). Triclosan persistence through wastewater treatment plants and its potential toxic effects on river biofilms. *Aquatic Toxicology*, 100 (4), 346–353. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.08.010>
- [7] Sprague, L. A., & Battaglin, W. A. (2005). Wastewater Chemicals in Colorado's Streams and Ground Water – What are wastewater chemicals. USGS Colorado Water Science Center, Fact Sheet 2004–3127. <https://pubs.usgs.gov/fs/2004/3127/pdf/FactSheet.pdf>.
- [8] Yazdankhah, S. P., Scheie, A. A., Høiby, E. A., Lunestad, B. T., Heir, E., Fotland, T. Ø., Naterstad, K., & Kruse, H. (2006). Triclosan and antimicrobial resistance in bacteria: an overview. *Microb Drug Resist*, 12(2), 83–90. <https://doi.org/10.1089/mdr.2006.12.83>
- [9] Clayton, E. M. R., Todd, M., Dowd, J. B., & Aiello, A. E. (2011). The Impact of Bisphenol A and Triclosan on Immune Parameters in the U.S. Population, NHANES 2003–2006. *Environmental Health Perspectives*, 119(3): 390–396. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002883>
- [10] Veldhoen, N., Skirrow, R. C., Osachoff, H., Wigmore, H., Clapson, D., Gunderson, M. P., Aggelen, G. V., & Helbing, C. C. (2006). The bactericidal agent triclosan modulates thyroid hormone-associated gene expression and disrupts postembryonic anuran development. *Aquatic Toxicology*, 80(3), 217–227. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.08.010>. Corrigendum: *Aquatic Toxicology*, 83(1), 84. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.03.009>
- [11] Yang, H., Wang, W., Romano, K. A., Gu, M., Sanidad, K. Z., Kim, D., Yang, J., Schmidt, B., Panigrahy, D., Pei, R., Martin, D. A., Ozay, E. I., Wang, Y., Song, M., Bolling, B. W., Xiao, H., Minter, L. M., Yang, G., Liu, Z., Rey, F. E., & Zhang, G. (2018). A common antimicrobial additive increases colonic inflammation and colitis-associated colon tumorigenesis in mice. *Science Translational Medicine*, 10(443). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aan4116>
- [12] Yin, J., Wei, L., Shi, Y., Zhang, J., Wu, K., & Shao, B. (2015). Chinese population exposure to triclosan and triclocarban as measured via human urine and nails. *Environmental Geochemistry and Health*, 38(5), 1125–1135. <https://doi.org/10.1007/s10653-015-9777-x>

- [13] Adolfsson-Erici, M., Pettersson, M., Parkkonen, J., & Sturve, J. (2002). Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden. *Chemosphere*, 46(9-10), 1485-1489. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(01\)00255-7](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00255-7)
- [14] Fair, P. A., Lee, H. B., Adams, J., Darling, C., Pacepavicius, G., Alaee, M., Bossart, G. D., Henry, N., & Muir, D. (2009). Occurrence of triclosan in plasma of wild Atlantic bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) and in their environment. *Environmental Pollution*, 157(8-9), 2248-2254. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.04.002>
- [15] Dann, A. B., & Hontela, A. (2011). Triclosan: environmental exposure, toxicity and mechanisms of action. *Journal of Applied Toxicology*, 31(4), 285-311. <https://doi.org/10.1002/jat.1660>.
- [16] Chen, Y., Lei, X., Dou, R., Chen, Y., Hu, Y., Zhang, Z. (2017). Selective removal and preconcentration of triclosan using a water compatible imprinted nano-magnetic chitosan particles. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(22), 18640-18650. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9467-6>
- [17] FDA issues final rule on safety and effectiveness of antibacterial soaps: Rule removes triclosan and triclocarban from over-the-counter antibacterial hand and body washes. U.S. Food and Drug Administration. Press Announcements 2016. <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm517478.htm> (consultado a 20 de Junho de 2019)
- [18] Safety and Effectiveness of Consumer Antiseptics; Topical Antimicrobial Drug Products for Over-the-Counter Human Use. U.S. Food and Drug Administration. Rule 2016, 81 FR 61106-61130, 2016-21337. <https://www.federalregister.gov/documents/2016/09/06/2016-21337/safety-and-effectiveness-of-consumer-antiseptics-topical-antimicrobial-drug-products-for> (consultado a 20 de Junho de 2019)
- [19] Andriukaitis (2016). Triclosan Ban. European Parliament, Parliamentary questions 2016. P-006697/2016. [http://www.europarl.europa.eu/doceo/document/P-8-2016-006697-ASW\\_EN.html](http://www.europarl.europa.eu/doceo/document/P-8-2016-006697-ASW_EN.html) (consultado a 22 de Junho de 2019)
- [20] Wang, L., & Chu, S. (2004). Voltammetric Detector for Liquid Chromatography: Determination of Triclosan in Rabbit Urine and Serum. *Chromatographia*, 60(7-8), 385-390. <https://doi.org/10.1365/s10337-004-0414-6>
- [21] Atar, N., Eren, T., Yola, M. L., & Wang, S. (2015). A sensitive molecular imprinted surface plasmon resonance nanosensor for selective determination of trace triclosan in wastewater. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 216, 638-644. <http://doi.org/10.1016/j.snb.2015.04.076>
- [22] Song, S., Song, Q. J., & Chen, Z. (2007). Online phototransformation-flow injection chemiluminescence determination of triclosan. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387(8), 2917-2922. <http://doi.org/10.1007/s00216-007-1130-5>
- [23] Marques, I. (2016). Desenvolvimento de um sensor de triclosan em meio aquoso complexo. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, Portugal.
- [24] Marques, I., Magalhães-Mota, G., Pires, F., Sérgio, S., Ribeiro, P. A., & Raposo, M. (2016). Detection of traces of triclosan in water. *Applied Surface Science*, 421, 142-147. <http://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.12.170>
- [25] Serrano, S. (2018). Desenvolvimento de um sensor para deteção de triclosan em leite materno. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, Portugal.
- [26] Oliveira Jr., O. N., Raposo, M. F., & Dhanabalan, A., in: H.S. Nalwa (Ed.). (2001). *Handbook of Surfaces and Interfaces of Materials: Solid Thin Films and Layers - Chapter 1*, 4, 1–63, Academic Press, New York.

- [27] Zhao, S., Caruso, F., Dahne, L., Decher, G., De Geest, B. G., Fan, J., Feliu, N., Gogotsi, Y., Hammond, P. T., Hersam, M. C., Khademhosseini, A., Kotov, N., Leporatti, S., Li, Y., Lisdat, F., Liz-Marzán, L. M., Moya, S., Mulvaney, P., Rogach, A. L., Roy, S., Shchukin, D. G., Skirtach, A. G., Stevens, M. M., Sukhorukov, G. B., Weiss, P. S., Yue, Z., Zhu, D., & Parak, W. J. (2019). The Future of Layer-by-Layer Assembly: A Tribute to ACS Nano Associate Editor Helmuth Möhwald. American Chemical Society, ACS Nano 2019, 13 (6), 6151-6169. <https://doi.org/10.1021/acsnano.9b03326>
- [28] Wilson, J. (2005). Sensor Technology Handbook, 1st Edition. Elsevier.
- [29] Harsányi, G., (2000). Sensors in Biomedical Applications: Fundamentals, Technology and Applications. Boca Raton, Florida: CRC PRESS.
- [30] Agarwal, A., & Lang, J. H. (2005). Foundations of Analog and Digital Electronic Circuits. Elsevier. p. 43
- [31] Winer, E. (2013). Part 3. The Audio Expert. New York and London: Focal Press. ISBN 978-0-240-82100-9.
- [32] Abegão, L. (2012). Desenvolvimento de um sensor para detecção de nano e micro concentrações de deltametrina. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, Portugal.
- [33] Toko, K. (2000). Taste sensor. Sensors and Actuators B: Chemical, 64(1-3), 205-215. [https://doi.org/10.1016/S0925-4005\(99\)00508-0](https://doi.org/10.1016/S0925-4005(99)00508-0)
- [34] Toko, K. (1998). RETRACTED: Electronic Tongue. Biosensors & Bioelectronics, 13(6), 701-709. [http://doi.org/10.1016/S0956-5663\(98\)00025-6](http://doi.org/10.1016/S0956-5663(98)00025-6)
- [35] Winqvist, F., Wide, P., & Lundstrom, I. (1997). An electronic tongue based on voltammetry. Analytica Chimica Acta, 357(1-2), 21-31. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(97\)00498-4](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(97)00498-4)
- [36] Taylor, D. M., & Macdonald, A. G. (1987). AC admittance of the metal/insulator/electrolyte interface, Journal of Physics D: Applied Physics, 20(10), 1277-1283. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/20/10/010>
- [37] Riul Jr., A., dos Santos Jr., D.S., Wohnrath, K., Di Tommazo, R., Carvalho, A. C. P. L. F., Fonseca, F. J., Oliveira, O. N., Taylor, D. M., & Mattoso, L. H. C. (2002). Artificial Taste Sensor: Efficient Combination of Sensors Made from Langmuir-Blodgett Films of Conducting Polymers and a Ruthenium Complex and Self-Assembled Films of an Azobenzene-Containing Polymer. Langmuir, 18(1), 239-245. <https://doi.org/10.1021/la011017d>
- [38] Sangodkar, H., Sukeerthi, S., Srinivasa, R. S., Lal, R., & Contractor, A. Q. (1996). A Biosensor Array Based on Polyaniline. Analytical Chemical. 68(5), 779-783. <https://doi.org/10.1021/ac950655w>
- [39] Pimentel, R. (2014). Desenvolvimento de um Sensor de Ibuprofeno em meio aquoso. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, Portugal.
- [40] Riul Jr., A., Dantas, C. A. R., Miyazaki, C. M., & Oliveira Jr., O. N. (2010). Recent advances in electronic tongues. Analyst, 135(10), 2453-2744. <https://doi.org/10.1039/c0an00292e>
- [41] Barsoukov, E., & Macdonald, J. R., (2005). Impedance Spectroscopy: Theory, Experiment, and Applications. 2nd Edition. Willey-Interscience. <https://doi.org/10.1002/0471716243>

- [42] Sousa e Silva, H. (2011). Estudo da adsorção de polieletrólitos e do ordenamento molecular de filmes poliméricos automontados através da óptica não-linear. Dissertação (Doutoramento) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, Brasil.
- [43] Gomes, J. (2010). Misturas de acetato de celulose-brometo de poli{[9,9-bis(6'-N,N,N-trimetilamónio) hexil]fluoreno-fenileno}: preparação, caracterização e cinética de libertação. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.
- [44] Assunção, I. (2016). Desenvolvimento de Dispositivos Orgânicos de Óxido de Grafeno para Conversão de Energia Solar. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, Portugal.
- [45] Pimentel, R. (2014). Desenvolvimento de um Sensor de Ibuprofeno em meio aquoso. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, Portugal.
- [46] Jackson, J. E. (1991). A User's Guide to Principal Components. Wiley. ISBN: 978-0-471-47134-9
- [47] Interdigitated Gold Electrode/10 microns lines and gaps/Glass Substrate. Brochure: G-IDEAU5 and G-IDEAU10. Metrohm International Headquarters. <https://www.metrohm.com/en/products/electrochemistry/electrochemistry-electrodes/G-IDEAU10> (consultado a 22 de Fevereiro de 2019)
- [48] Sigma-Aldrich 283223: Poly(allylamine hydrochloride). Merck. <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/283223> (consultado a 20 de Junho de 2019)
- [49] Jung, W., Jun, H., Hong, S., Paulson, B., Nam, Y. S., & Kyunghwan Oh, K. (2017). Cationic lipid binding control in DNA based biopolymer and its impacts on optical and thermo-optic properties of thin solid films. *Optical Materials Express*, 7(11), 3796-3808. <https://doi.org/10.1364/OME.7.003796>
- [50] Liu, X. D., Diao, H. Y., & Nishi, N. (2008). Applied chemistry of natural DNA. *Chemical Society Reviews*, 37(12), 2745–2757. <https://doi.org/10.1039/B801433G>
- [51] Kwon, Y., Lee, C. H., Choi, D., & Jin, J. (2009). Materials science of DNA. *Journal of Materials Chemistry*, 19(10), 1353–1380. <https://doi.org/10.1039/B808030E>
- [52] Molecular weight and mass: DNA oligonucleotide. ATDBio. <https://www.atdbio.com/content/2/Molecular-weight-and-mass> (consultado a 20 de Junho de 2019)
- [53] Wu, J., Qu, Y., Yu, Q., & Chen, H. (2018). Gold nanoparticle layer: a versatile nanostructured platform for biomedical applications. *Materials Chemistry Frontiers*, 2(12), 2175-2190. <https://doi.org/10.1039/C8QM00449H>
- [54] Foo, K. L., Hashim, U., Voon, C. H., Kashif, M., & Ali, M. E. (2015). Au decorated ZnO thin film: application to DNA sensing. *Microsystem Technologies*, 22, 903–910. <https://doi.org/10.1007/s00542-015-2572-x>
- [55] Mohammed, A. M., Rahim, R. A., Ibraheem, I. J., Loong, F. K., Hisham, H., Hashim, U., & Al-Douri, Y. (2014). Application of Gold Nanoparticles for Electrochemical DNA Biosensor. *Journal of Nanomaterials*, 2014, Article ID 683460. <http://doi.org/10.1155/2014/683460>
- [56] Sigma-Aldrich 03880: Poly(ethyleneimine) solution. Merck. <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/03880> (consultado a 20 de Junho de 2019)
- [57] Kuilla, T., Bhadra, S., Yao, D., Kim, N. H., Bose, S., & Lee, J. H. (2010). Recent advances in graphene based polymer composites. *Progress in Polymer Science*, 35(11), 1350-1375. <http://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2010.07.005>



- [58] Yang, Y., Han, C., Jiang, B., Icozzia, J., He, C., Shi, D., Jiang, T., & Lin, Z. (2016). Graphene-based materials with tailored nanostructures for energy conversion and storage. *Materials Science and Engineering R*, 102, 1–72. <http://doi.org/10.1016/j.mser.2015.12.003>
- [59] Custódio, P. (2016). Desenvolvimento de heterojunções híbridas nanoestruturadas para aplicação em células solares. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, Portugal.
- [60] Dreyer, D. R., Park, S., Bielawski, C. W., & Ruoff, R. S. (2010). The chemistry of graphene oxide. *Chemical Society Reviews*, 39(1), 228-240. <https://doi.org/10.1039/B917103G>
- [61] Sigma-Aldrich 795534: Graphene oxide nanocolloids. Merck. <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/795534> (consultado a 20 de Junho de 2019).
- [62] Bachner, M., Poh, Y. C., Serbowicz, T., Vozar, S. (2008). The “Spin-Grower”: A Machine for Rapid Layer-by-Layer Assembly of Nanostructured Materials. Final Report p. 5. Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, United States.
- [63] Compound Summary: Triclosan. PubChem. National Center for Biotechnology Information. U.S. National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Triclosan> (consultado a 20 de Junho de 2019).